

Neue Flavinsysteme zur Modellierung der Eigenschaften sensorischer Photorezeptoren



Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)
der naturwissenschaftlichen Fakultät IV
– Chemie und Pharmazie –
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Roman Procházka
aus Karlsbad (Tschechien)

2004

Diese Arbeit wurde angeleitet von *Prof. Dr. Jörg Daub*

Das Promotionsgesuch wurde eingereicht am: 2. November 2004

Das Kolloquium fand statt am: 14. Dezember 2004

Prüfungsausschuss: Prof. Dr. H. Krienke (Vorsitzender)
Prof. Dr. J. Daub (Erstgutachter)
Prof. Dr. G. Hauska (Zweitgutachter)
Prof. Dr. A. Penzkofer

Der experimentelle Teil dieser Arbeit entstand in der Zeit von April 2001 bis Dezember 2003 am Institut für Organische Chemie der Universität Regensburg.

Mein besonderer Dank gilt

Herrn Prof. Dr. Jörg Daub

für die Überlassung des interessanten und vielseitigen Themas, die Förderung und das stets mit Anregungen und Diskussionen verbundene Interesse an dieser Arbeit.

Der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* danke ich für das zur Verfügung gestellte Promotionsstipendium.

*Meinen Eltern
und
Andrea*

| | |
|--|-----------|
| 1 EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG | 1 |
| 1.1 NATÜRLICHE PHOTOREZEPTOREN | 1 |
| 1.1.1 <i>Blaulichphotorezeptoren und Flavoenzyme</i> | <i>2</i> |
| 1.1.2 <i>Flavin als Baustein der Blaulichphotorezeptoren</i> | <i>3</i> |
| 1.1.3 <i>Photosensorik und Photovoltaik</i> | <i>4</i> |
| 1.1.4 <i>Energie- und Elektronentransfer</i> | <i>6</i> |
| 1.2 PROBLEMSTELLUNG | 8 |
| 2 CRYPTOCHROM-MODELLSYSTEME | 13 |
| 2.1 EINFÜHRUNG | 13 |
| 2.1.1 <i>Aufbau und Funktion</i> | <i>13</i> |
| 2.1.2 <i>Modellsysteme.....</i> | <i>14</i> |
| 2.2 SYNTHESE..... | 15 |
| 2.2.1 <i>Synthese des Isoalloxazins</i> | <i>15</i> |
| 2.2.2 <i>Funktionalisierung des Phenothiazins.....</i> | <i>17</i> |
| 2.2.3 <i>Synthese der Phenothiazin-Isoalloxazin (Donor-Akzeptor) Verbindungen.....</i> | <i>18</i> |
| 2.2.4 <i>Synthese der Redoxmediator-Antenne-Diade und Donor-Redoxmediator-Antenne-Triade....</i> | <i>19</i> |
| 2.2.5 <i>Synthese der konjugierten Deazaflavin-Flavin- und Phenothiazin-Flavin-Diaden.....</i> | <i>20</i> |
| 2.3 ABSORPTIONSSPEKTROSKOPIE..... | 23 |
| 2.3.1 <i>Pyren-Phenothiazin-Flavin-Konjugate.....</i> | <i>23</i> |
| 2.3.2 <i>Deazaflavin-Flavin-Diade S-29.....</i> | <i>26</i> |
| 2.3.3 <i>Konjugierte Phenothiazin-Flavin-Diade 33 und 34</i> | <i>28</i> |
| 2.4 FLUORESZENZSPEKTROSKOPIE | 31 |
| 2.4.1 <i>Fluoreszenzeigenschaften der Konjugatenbausteine</i> | <i>31</i> |
| 2.4.2 <i>Diaden 12 und 13 und Triade 17</i> | <i>32</i> |
| 2.4.3 <i>Diaden S-29, 33 und 34.....</i> | <i>38</i> |
| 2.5 ELEKTROCHEMIE UND SPEKTROELEKTROCHEMIE | 39 |
| 2.5.1 <i>Elektrochemische Untersuchungen der Diaden 12 und 13 und der Triade 17.....</i> | <i>40</i> |
| 2.5.2 <i>Elektrochemische Untersuchungen der Diaden S-29 und 34.....</i> | <i>50</i> |
| 2.6 BERECHNUNGEN | 56 |
| 2.7 ZUSAMMENFASSUNG | 57 |
| 3 PHOTOTROPIN-MODELLSYSTEME | 60 |
| 3.1 EINFÜHRUNG | 60 |
| 3.2.1 <i>Schwefelverbindungen in der Natur</i> | <i>61</i> |
| 3.2.2 <i>Photozyklus</i> | <i>62</i> |
| 3.2 SYNTHESE UND ¹H-NMR-UNTERSUCHUNGEN | 64 |
| 3.2.1 <i>Synthese</i> | <i>64</i> |
| 3.2.2 <i>¹H-NMR-Untersuchungen.....</i> | <i>66</i> |

| | |
|---|-----------|
| 3.3 ABSORPTIONS- UND FLUORESZENZSPEKTROSKOPIE | 68 |
| 3.4 BESTRAHLUNG | 69 |
| 3.5 CYCLOVOLTAMMETRIE UND SPEKTROELEKTROCHEMIE | 75 |
| 3.6 ZUSAMMENFASSUNG | 78 |
| 4 FLAVINDIMERE | 81 |
| 4.1 EINFÜHRUNG | 81 |
| 4.1.1 Dimerenart | 82 |
| 4.1.2 8 α -Position | 84 |
| 4.1.3 Stilbensysteme | 85 |
| 4.1.4 Entkoppelte Systeme | 86 |
| 4.1.5 Supramolekulare Strukturen | 86 |
| 4.2 SYNTHESE DER RIBOFLAVINDIMERE | 89 |
| 4.2.1 Schützen der Hydroxylgruppen des Riboflavins | 89 |
| 4.2.2 Tautomerisierung | 90 |
| 4.2.3 Dimerisierung | 90 |
| 4.2.4 Oxidation | 91 |
| 4.2.5 Substitution an der N(3)-Position | 94 |
| 4.3 NMR SPEKTROSKOPIE DER FLAVINDIMERE | 95 |
| 4.3.1 Vergleich von Riboflavin und Flavindimeren | 95 |
| 4.3.2 2D NMR-Studien der Flavindimere | 98 |
| 4.4 ABSORPTIONSSPEKTROSKOPIE UND CIRCULARDICHROISMUS DER FLAVINDIMERE | 104 |
| 4.4.1 Absorptionsspektroskopie | 104 |
| 4.4.2 Circulardichroismus | 108 |
| 4.5 FLUORESZENZSPEKTROSKOPIE DER FLAVINDIMERE | 111 |
| 4.5.1 Stationäre Fluoreszenzspektroskopie | 111 |
| 4.5.2 Zeitaufgelöste Fluoreszenzspektroskopie | 115 |
| 4.6 ELEKTROCHEMIE UND SPEKTROELEKTROCHEMIE DER FLAVINDIMERE | 116 |
| 4.6.1 Cyclovoltammetrie | 116 |
| 4.6.2 Spektroelektrochemie | 127 |
| 4.6.3 Reaktion von Flavindimeren mit Thiolen | 135 |
| 4.7 ESR-SPEKTROSKOPIE DER FLAVINDIMERE | 137 |
| 4.8 BINDUNGSSTUDIEN DER FLAVINDIMERE (NICHTKOVALENTE WECHSELWIRKUNGEN) | 140 |
| 4.8.1 Wasserstoffbrückenbildung | 140 |
| 4.8.2 Metallkomplexierung | 147 |
| 4.8.3 Aggregation mittels π - π -elektronischer Wechselwirkungen (" π - π -stacking") | 151 |
| 4.9 ZUSAMMENFASSUNG | 166 |

| | |
|---|------------|
| 5 EXPERIMENTELLER TEIL | 170 |
| 5.1 ALLGEMEINES..... | 170 |
| 5.2 SYNTHESE..... | 174 |
| 5.2.1 <i>Cryptochrom-Modellsysteme</i> | <i>176</i> |
| 5.2.2 <i>Phototropin-Modellsysteme</i> | <i>203</i> |
| 5.2.3 <i>Flavindimere.....</i> | <i>214</i> |
| 5.2.3 <i>Rezeptoren</i> | <i>223</i> |
| 6 ZUSAMMENFASSUNG..... | 229 |
| 7 FORMELTAFEL | 233 |
| 8 PUBLIKATIONEN UND PRÄSENTATIONEN | 242 |
| DANKSAGUNG | |

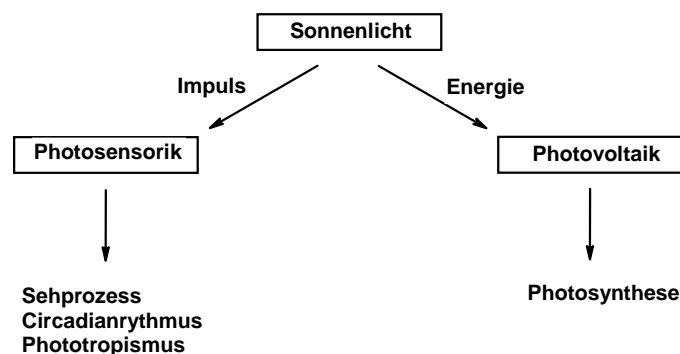
Abkürzungsverzeichnis

| | | | |
|--------------------|---|--------|---|
| Abb. | Abbildung | HOPG | Highly ordered pyrolytic graphite |
| abs. | absolut | | |
| ACN | Acetonitril | HPLC | High performance liquid chromatography |
| AFM | Atomic Force Microscopy | | |
| ATP | Adenosintriphosphat | HR | High resolution |
| ber. | berechnet | HOAt | 1-Hydroxy-7-azabenzotriazol |
| BuLi | n-Butyllithium | IR | Infrarot-Spektroskopie/-Spektrum |
| c | Konzentration | | |
| CAS | Chemical Abstracts | J | Kopplungskonstante |
| CD | Circulardichroismus | konz. | konzentriert |
| CT | Charge Transfer | Lit. | Literatur |
| CV | Cyclovoltammetrie | LM | Lösungsmittel |
| d | Tage | LOV | light, oxygen, voltage |
| DBU | 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]-undec-7-en | Lsg. | Lösung |
| DC | Dünnschichtchromatogramm | M | molar |
| DDQ | 2,3-Dichlor-5,6-dicyan- <i>p</i> -benzoquinon | min | Minuten |
| DMF | 4- <i>N,N</i> -Dimethylformamid | MC | Methylenchlorid |
| DMSO | Dimethylsulfoxid | MS | Massenspektrometrie/Massenspektrum |
| DMAP | <i>N,N</i> -Dimethylaminopyridin | NMR | Nuclear Magnetic Resonance |
| DNA | Desoxyribonukleinsäure | PE | Petrolether 40/60 |
| $E^{1/2}$ | Halbstufenpotential | PET | photoinduzierter Elektronentransfer |
| EE | Ethylacetat | Ph | Phenylrest |
| EDC | <i>N</i> '-(3-Dimethylaminopropyl)- <i>N</i> -ethylcarbodiimid Hydrochlorid | ÖVP | Ölvakuumpumpe |
| em | Emission | RT | Raumtemperatur |
| ESI | Electrospray ionization | Schmp. | Schmelzpunkt |
| ET | Elektronentransfer | SEC | Spektroelektrochemie |
| EtOH | Ethanol | Sdp. | Siedepunkt |
| ex | Anregung | sh | Schulter in opt. Spektren |
| FAB | Fast-Atom Bombardment | Tab. | Tabelle |
| FAD | Flavinadenosindinukleotid | TBAHFP | Tetrabutylammonium-hexafluorophosphat |
| Fc/Fc ⁺ | Ferrocen / Ferrocenium | TBAP | Tetrabutylammonium-perchlorat |
| FD | Feld-Desorption | THF | Tetrahydrofuran |
| FMN | Flavinmononukleotid | TMS | Tetramethylsilan |
| gef. | gefunden | UV/Vis | Ultraviolett/Visible-Spektroskopie/Spektrum |
| ges. | gesättigt | verd. | verdünnt |
| h | Stunden | | |

1 Einleitung

1.1 Natürliche Photorezeptoren

Die Photosynthese^[1] stellt ein Meisterwerk der Natur dar. Die Umwandlung von einfachen Molekülen in komplexe Moleküle mittels Sonnenenergie ist für viele Menschen faszinierend. Für Wissenschaftler stellt sie eine Herausforderung dar, da die Nachahmung dieser Prozesse aufgrund der Knappheit der fossilen Brennstoffe und der unbegrenzten Verfügbarkeit von Sonnenlicht eine wichtige Energiequelle erschließen würde.^[2] Von der mechanistischen Sicht vollzieht sich die Umsetzung von Licht in ein elektrisches Signal (photo-elektrische Transduktion) in den Chloroplasten. Das wichtigste Molekül in der Photosynthese ist das Chlorophyll. Aufgebaut ist es auf der Basis von Porphyrin und absorbiert im roten Bereich des Spektrums. Neben der Photosynthese ist die biologische Photosensorik ein zweites wichtiges Feld lichtabhängiger Prozesse.^[3] (Schema 1.1-1)



Schema 1.1-1: Klassifizierung der Photoprozesse.

Sensorische Photorezeptoren sind die supramolekularen Architekturen, die die Umwandlung der Lichtsignale bewirken. Natürliche Photorezeptoren bestehen aus einem Chromophor, der kovalent oder nichtkovalent an den Proteinen gebunden ist. Häufig sind diese Photorezeptoren in Membranen eingebunden, die die Übertragung eines Lichtreizes in chemische Signale begünstigen. Um das sichtbare Licht (den spektralen Bereich der Sonnenstrahlung) am besten auszunutzen, wird der gesamte Bereich von blau über grün bis rot durch die Absorption verschiedener Photorezeptoren abgedeckt. Im roten Bereich absorbiert der Photorezeptor Phytochrom (660, 730nm), der das Wachstum von Pflanzen reguliert. Für das menschliche Auge und den Sehprozess der

höheren Organismen (Wirbeltiere) ist der Photorezeptor Rhodopsin unentbehrlich. Am empfindlichsten ist dieses im Bereich des Absorptionmaximums des Rhodopsins ($\approx 580\text{nm}$). Zwischen 300 und 440nm sind die sogenannte Blaulichtphotorezeptoren aktiv. Zu dieser Klasse gehören Photorezeptoren auf der Basis von Flavin, Cumarsäure, Carotinoide und andere.

Wie schon kurz angesprochen wurde, ist die primäre Reaktion nach dem Lichtanreiz des Photorezeptors auf den vorhandenen Chromophor zurückzuführen. Je nach Chromophor wird ein photophysikalischer oder photochemischer Prozess ausgeübt. Zum Beispiel gehen Carotinoide, Cumarsäure und Phytochromobilin nach der Anregung eine cis-trans Isomerisierung ein. Andere Chromophore übertragen die gewonnene Energie (Energietransfer) weiter auf ihren Reaktionspartner oder setzen durch die Lichtenergie ein Elektron frei (Elektronentransfer).^[4] Letztendlich kann ein Signal durch eine photochemische Reaktion ausgelöst werden, wie z.B. die Reaktion von Flavin mit Cystein in Phototropin.^[5-7] Nach dieser primären Reaktion folgen eine Kaskade nachgeordneter Prozesse (Signalkaskade), die dann Auswirkung auf die Funktion des Organismus haben.

1.1.1 Blaulichtphotorezeptoren und Flavoenzyme

Die Studien der Lichteinwirkung auf Organismen haben gezeigt, dass fast alle Lebewesen von Bakterien bis zu Tieren auf einen Lichtreiz mit blauem hochenergetischem Licht (UVA, UVB und VIS bis 440nm) reagieren. Photoaktivierung von Bakterien, Phototropismus, Photomorphogenese, Phototaxis und die Ausführung des Circadianzyklus^[8-11] wurden dabei beobachtet. Für diese biologischen Funktionen sind Photorezeptoren auf der Basis von Carotinoiden, Flavinen oder Pterinen verantwortlich.

Eines der wichtigsten lichtgesteuerten Flavoenzyme ist die Photolyase, die die Reparatur der durch UV-Strahlung beschädigten DNA ermöglicht. Thymindimere, welche die Photoprodukte der UV-Strahlung sind, werden durch die katalytische Wirkung von Flavin wieder in zwei Thymineinheiten gespalten. Von Bedeutung ist ebenfalls der vor wenigen Jahren entdeckte und mit der Photolyase strukturell verwandte Photorezeptor Cryptochrom.^[12-14] Die Funktion dieses Photorezeptors ist die Steuerung des Circadianzyklus (der biologischen Uhr) der Organismen und deren Anpassung an die Lichtverhältnisse in Umgebung.^[15, 16] Der genaue Mechanismus der photochemischen Aktivierung der Cryptochrome ist noch nicht in allen Einzelheiten klar.^[14]

Die Untersuchungen des Phototropismus haben zur Entdeckung eines neuen Blaulichtphotorezeptors des Phototropins geführt. Phototropine^[17-22] sind Photorezeptoren, die die durch einen Lichtreiz hervorgerufene Wachstumsbewegung von Pflanzen - den Phototropismus regulieren. Wachstum auf eine Lichtquelle zu wird als positiver, von der Lichtquelle weg als negativer Phototropismus bezeichnet. Die Signalübertragung startet durch eine photochemische Reaktion der Aminosäure Cystein mit Flavin im Tripletzustand.^[23-26] Intensive Untersuchungen dieser photochemischen Reaktion in den letzten Jahren brachten viele neue Erkenntnisse über den Mechanismus, welcher später noch behandelt wird.^[27-29]

Andere Photorezeptoren auf der Basis von Flavin stellen BLUF- und FKF1-Photorezeptoren dar. Durch BLUF-Photorezeptor (Blue Light Sensors Using FAD) wird die Phototaxis z.B. eine lichtinduzierte freie Ortsbewegung ein- oder wenigzelliger Organismen gesteuert.^[30] FKF1-Photorezeptor kontrolliert die photoperiodische Blühzeit der Pflanzen in der Abhängigkeit an der Uhrzeit.^[31] Einige Photorezeptoren, deren Funktion unklar ist, wie Stentorin mit seinem Chromophor Hypericin (aus Johanniskraut) werden intensiv untersucht.^[32-35]

1.1.2 Flavin als Baustein der Blaulichtphotorezeptoren

Die Entdeckung des Riboflavins (Vitamin B₂) von *Blyth* im Jahre 1847 und seine Synthese in den 30-iger Jahren des letzten Jahrhunderts brachten viele neue Erkenntnisse über die in der Natur verlaufenden Prozesse, an denen die Flavine beteiligt sind. Riboflavin, als Teil des Flavinmononukleotides (FMN) oder Flavinadenosindinukleotides (FAD), spielt eine wichtige Rolle in vielen natürlichen Redoxprozessen. Flavin ist ein Cofaktor, der von der Natur sehr häufig verwendet wird. Mindestens 151 Enzyme sind bekannt, die auf der Basis von FAD oder FMN aufgebaut sind, wobei FAD die öfters verwendete Form ist. Die Redoxeigenschaften des Riboflavins und anderer Flavinderivate sind durch die Eigenschaften des Isoalloxazingrundkörpers geprägt. In Lebewesen fungieren Flavine oft als Mediatoren einer Zweielektronenreduktion und einem Einelektronenprozess.^[36] Diese Prozesse sind reversibel und deshalb tritt Flavin als Katalysator und als natürlicher Redoxschalter in vielen biochemischen Reaktionen auf.

Eine der bestuntersuchten Reaktionen, wegen ihrer Wichtigkeit im Organismus, ist die Oxidation von NADPH in *Flavinreduktasen*.^[37-42] Der Mechanismus der katalytischen

Wirkung von Flavin in dieser Reaktion stellt einen Zweielektronenprozess dar, an dem u.a. die nichtkovalenten Wechselwirkungen wie π - π -Stacking (Flavin-NADP) beteiligt sind und in dem Flavin-Thiol-Addukte und Thiolat-Flavin-Charge-Transfer-Komplex gebildet werden. Damit sind nur einige Prozesse aufgezeigt, die das Flavinmolekül eingehen kann. Weitere Angaben sind in *Abbildung 1.1-1* gezeigt.

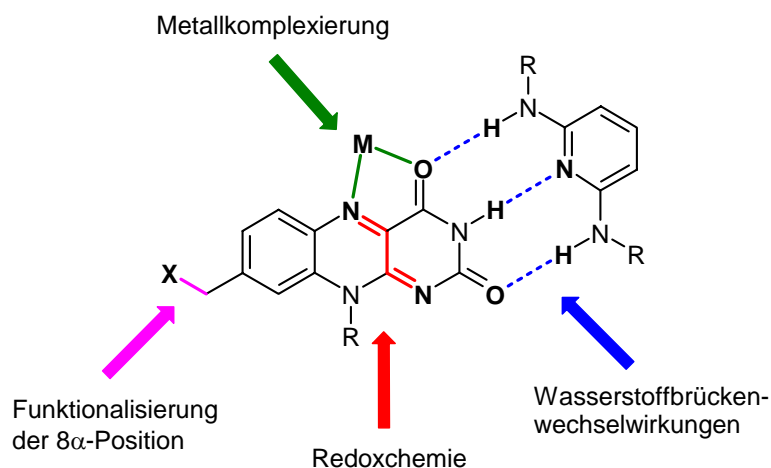


Abb. 1.1-1: Isoalloxazin – elektrochemische und supramolekulare Eigenschaften.

In der Natur kommen zwei mögliche Bindungsarten zwischen Proteinen und Flavin (FAD, FMN) vor. Es besteht entweder eine kovalente Bindung in der 8-Position oder eine nichtkovalente, in dem das Molekül vom Protein umhüllt ist und darin „festsitzt“. Der letztgenannte Fall ist von einer biochemischen Sicht äußerst interessant, da nur eine sehr kleine Geometrieänderung, die durch verschiedene Raumanordnungen des Isoalloxazinsgrundkörpers in den verschiedenen Redoxstufen ausgelöst wird, eine biochemische Kaskade startet (Phototropin).

1.1.3 Photovoltaik und Photosensorik

Die Nachahmung von photophysikalischen und photochemischen Prozessen von Photorezeptoren durch artifizielle Systeme ist ein bedeutendes Forschungsgebiet der Gegenwart. Ziel ist es dabei Bauelemente zu schaffen, die zum einen zur Umwandlung und Speicherung von Sonnenenergie befähigt sind (Photovoltaik), zum anderen Einsatz in der Lichtsteuerung neuartiger elektronischer Geräte finden könnten (Photosensorik). Als ein weiterer Ansatzpunkt ist die Verwendung von Schaltprozessen auf der Basis von Molekülen ähnlich zu den natürlichen Photorezeptoren. Grundlage ist das Prinzip des molekularen Schalters, ein oder mehrere Moleküle, die durch einen oder mehrere

externe Stimuli (Eingabe) vorhersagbar und reversibel ihre Eigenschaften ändern. Eigenschaftsänderungen können Veränderung des elektrochemischen Potentials, der Absorption oder der Fluoreszenz sein.^[43-48] Die Relation zwischen Input und Output kann nach logischen Operationen klassifiziert werden und könnte daher unter dem Schlagwort „Molekulare Elektronik“ technische Bedeutung erwerben. Der Vorteil solcher Systeme ist die erhöhte Speicherdichte und naturerprobte Effizienz. Von den natürlichen Photorezeptoren wird das Bakteriorhodopsin, das aus der Zellmembranen gewonnen wird, in der Praxis als Marker in Sicherheitssystemen angewendet.^[49, 50]

Die ersten synthetisierten Photosysteme wurden auf der Basis von Porphyrin dargestellt, welche mit natürlichen und naturfremden Komponenten, wie Anthracen, Karotin, Flavon, Porphyrin, und TCNQ kombiniert wurde. Diese Diaden, Triaden, Polyaden hatten Eigenschaften, die nur sehr geringe Effizienz (4%) erreichten.^[51-67]

Durch die Entdeckung der neuen Blaulichtphotorezeptoren wird angestrebt, ihre photosensorischen Eigenschaften nachzuahmen. In der Literatur gibt es Vielfalt der photoaktiven Moleküle, die im Prozess des molekularen Schaltens verwendet werden. Aber es gibt nur wenige Systeme, die als eine Signalkaskade funktionieren. In diesem Fall kommen die Blaulichtphotorezeptoren als Modellsysteme zum Einsatz.^[68-71] In der Mimetik der sensorischen Photorezeptoren ist es wichtig die Prozesse der Energie- und Elektronenübertragung voneinander zu unterscheiden, um gezielte Systeme bauen zu können. Stellvertretend für den Elektronentransfer in den Blaulichtphotorezeptoren ist die Elektronenübertragung von Tryptophan und Tyrosin zum angeregten FAD im Cryptochrom^[72], in der DNA^[73, 74] und in den Modellsystemen^[75]. Das Beispiel für den Energietransfer ist die Energieübertragung von 5-Deazaflavin zu FAD in der Photolyase.^[76] *Rotello* versucht diese Prozesse auf der Basis von einfachen Isoalloxazinderivaten über supramolekulare Wechselwirkungen nachzuahmen.^[77] Modellsysteme von *Shinkai* beruhen auf der Verknüpfung der photochemischen und elektrochemischen Eigenschaften des Flavins.^[78-80] Einige Modellsysteme fanden Anwendung in der photodynamischen Therapie.^[81] Die artifiziellen Modelle der Blaulichtphotorezeptoren Hypericin und Stentorin sollen ihre sensorische Funktion in Liposomen nachahmen.^[82-84]

Von besonderer Bedeutung ist neben der Synthese geeigneter Schaltsystemen auch die Lokalisierung dieser in übergeordnete Strukturen, wie Helicen, Faltblattstrukturen u.v.a., denn oligomere und polymere Strukturen stellen vielversprechende Elemente der molekularen Elektronik dar. Zum Aufbau dieser Strukturen können vor allem nichtko-

valente Wechselwirkungen, wie Wasserstoffbrückenbindungen, Salzbrücken, hydrophobe Wechselwirkungen und Metallkomplexierungen genutzt werden.^[85-92] Diese Wechselwirkungen spielen auch in der Natur eine fundamentale Rolle, wie bei der Erkennung eines Substrats durch ein Enzym oder bei der Replikation der DNA. Die übergeordneten Strukturen können sich durch ihre elektrischen, ionischen, photophysikalischen, magnetischen, mechanischen, thermischen und chemischen Eigenschaften an Transformationsprozessen, Speicherung, Regulierung und an Signalübertragung beteiligen, wie es beispielsweise in der DNA, in Bakteriorhodopsin^[93-99], in Cryptochrom^[100, 101] oder Phototropin^[102] geschieht.

1.1.4 Energie- und Elektronentransfer^[103]

Energie- und Elektronentransfer sind die zwei fundamentalen Grundprozesse, die der Umwandlung photonischer Energie in chemische Energieformen dienen. Auf diesen Transferprozessen basiert der Prozess der Photosynthese und das Einschalten der biochemischen Signalkaskade durch die Aktivierung der Photorezeptoren. Der Energietransferprozess verläuft nach zwei Mechanismen. Der Förster-Mechanismus^[104] oder auch Resonanzenergie-Mechanismus ist ein strahlungsloser Austausch der Energie über dipolare Wechselwirkung. Dieser Mechanismus ist vom Abstand abhängig, wobei er im Bereich 15-60 Å liegt. Die Spinzustände der beteiligten Moleküle bleiben erhalten. Der Dexter-Mechanismus^[105] setzt eine Überlappung der Molekularorbitale und damit den direkten Kontakt der beiden Moleküle und den Austausch der Elektronen voraus. Dieser Prozess ist abhängig vom Abstand der beteiligten Moleküle und die Spinzustände können sich ändern, wobei der Gesamtspin erhalten bleiben muß. (Abbildung 1.1-2)

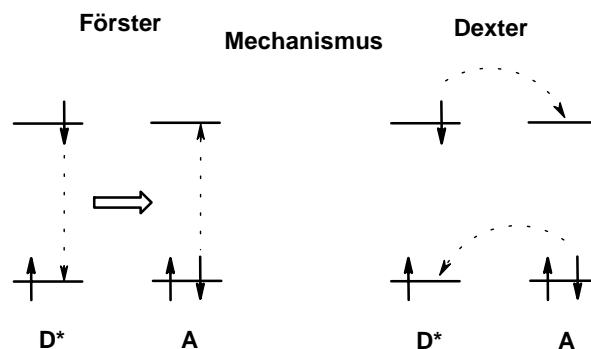


Abb. 1.1-2: Energietransfermechanismen (D*- Energiedonor, A- Energieakzeptor).

Der Elektronentransfer^[106] zwischen einem Elektronendonator und -akzeptor kann auch über zwei verschiedene Mechanismen verlaufen. Beim Superaustausch-Mechanismus wird die Brücke zwischen dem Ladungsdonor und -akzeptor als ein großes delokalisiertes Molekülorbital betrachtet. Es handelt sich dabei um einen Tunnelprozess. Das bedeutet, dass sich die Ladung zu keiner Zeit auf der Brücke aufhält. Zu diesem Prozess kommt es, wenn der Zustand des angeregten Donors ein geringeres Energieniveau aufweist, als die Brücke. Dabei ist eine exponentielle Abnahme der Übertragungsgeschwindigkeit k_{CT} mit dem Abstand R zwischen Donor und Akzeptor charakteristisch. Beim Hopping-Mechanismus wird die Ladung in mehreren Schritten zum Akzeptor transportiert. Das bedeutet, dass nach jedem einzelnen Hopping-Schritt die Ladung auf der Brücke kurzzeitig lokalisiert ist. Entscheidend für das Auftreten dieses Mechanismus ist wiederum die Lage der Potentiale des Donors und Akzeptors im Vergleich zur Brücke. Befindet sich der Zustand des photoangeregten Donors in Resonanz mit den Schwingungszuständen der Brücke, so wird der Hopping-Mechanismus vorhergesagt. Die Geschwindigkeit des Ladungstransportes ist nicht abhängig von der Gesamtdistanz zwischen Donor und Akzeptor. (Abbildung 1.1-3) Der Elektronentransfer in der natürlichen DNA ist das beste Beispiel für diesen Prozess. Es wird rege diskutiert, ob die Übertragung über den Superaustausch- oder Hoppingmechanismus verläuft.^[107-119]

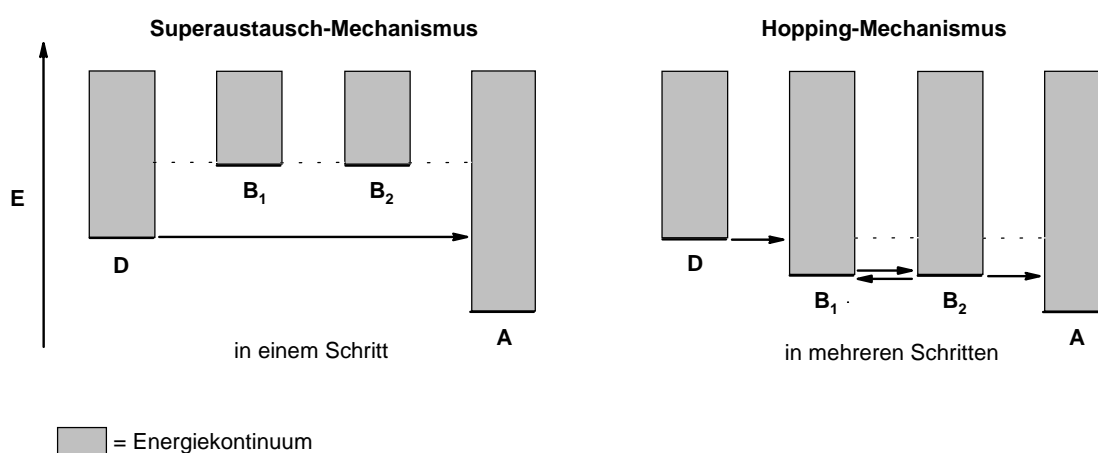


Abb. 1.1-3: Elektronentransfermechanismen nach dem Bändermodell (D- Elektronendonator, B_1 , B_2 - Brücken, A- Elektronakzeptor, E- Energie).

Beide Prozesse, Energie- und Elektronentransfer, wurden auch in supramolekularen Systemen beobachtet, die über nichtkovalente Wechselwirkungen oder eine Kombination zwei oder mehrere Typen dieser Interaktionen gebildet werden.^[120, 121] Die Wasserstoffbindung zwischen zwei Komponenten (Donor-Akzeptor) zeigt, dass die Elektronenübertragung bei vergleichbarer Bindungslänge effektiver als eine Kette von

σ -C-C-Bindungen ist. Die Untersuchung der π - π -Stapelung in der DNA zeigt, dass ein Elektronentransfer zwischen zwei in der DNA eingebetteten Chromophoren in Abstand bis über 40 Å effektiv ist. Das entspricht über 25 Basenpaaren und Geschwindigkeitskonstante k_{ET} von $> 10^9 \text{ s}^{-1}$. Das stellt sich interessant für die Forschung und die Darstellung der artifiziellen Systeme, da solche Systeme als leitfähige Polymere für Anwendungen in der Sensorik eingesetzt werden können.^[114] In den letzten Jahren wird versucht, die Funktion der Photolyase durch die Einführung von Flavin als heterocyklische Basenkomponente in die DNA nachzuahmen und der Elektronentransfer von Flavin zum Thymindimer zu beschleunigen. Die Ergebnisse zeigen, dass dank der Leitfähigkeit der DNA die Elektronenübertragung von Flavin zu Thymindimer entlang der Helix möglich ist.^[76, 122-124]

1.2 Problemstellung

Um die große Zahl der neu entdeckten Blaulichtrezeptoren molekular verstehen zu lernen, werden Primärschritte biologischer Photorezeptoren in organischen Modellsystemen nachgestellt und Struktureigenschaftsbeziehungen bezüglich ihrer spektroskopischen Eigenschaften und ihrer Reaktivitäten untersucht. Artifizielle Photorezeptoren, die nach Prinzipien biologischer Vorbilder funktionieren, werden für Anwendungen im Bereich der Diagnostik, Sensorik, Reaktionssteuerung und für die Tumorthherapie entwickelt sowie spektroskopisch charakterisiert.

Die erste Aufgabe ist die Synthese und Charakterisierung der Cryptochrommodellsysteme. Die Modellierung dieses artifiziellen Photorezeptors beruht auf einer Verknüpfung der Funktionseinheiten bestehend aus Antenne, Redoxmediator, Signalüberträger und Rezeptor. Der Aufbau soll an das Photolyase- und Cryptochromreaktionszentrum erinnern. Um die Prozesse zwischen den Funktionseinheiten zu charakterisieren, werden sowohl spektroskopische als auch elektrochemische Methoden eingesetzt.

Als ein weiterer Schwerpunkt wird die Modellierung, Synthese und die spektroskopischen Untersuchungen der Phototropinmodellsysteme angestrebt. In diesem Fall soll es sich um ein „photochromes“ Modellsystem handeln, das die photonische Energie direkt in chemische Energie umwandelt. Die Untersuchungen sollen zeigen, in wie weit sich dieses Verhalten außerhalb des Proteins nachahmen lässt. Außerdem wird bei diesen synthetisierten Modellen untersucht, ob diese lichtinduzierte Reaktion intramolekular verläuft und damit die Bedingung der Photochromizität erfüllt.

Bei Flavindimeren handelt es sich um eine sehr wenig untersuchte Substanzklasse, deren spektroskopischen sowohl elektrochemischen Eigenschaften untersucht werden sollen. Die Flavindimere werden nach Vorschriften von *Hemmerich* und *Rastetter* synthetisiert und die Synthese wird optimiert. Die potenzielle Anwendung im Bereich der funktionellen Farbstoffe^[125, 126] soll überprüft werden. Die bifunktionellen 8,8'-Flavindimere stellen die Modellsysteme für die Untersuchung der Wechselwirkung zwischen zwei durchkonjugierten Isoalloxazineinheiten und der supramolekularen Eigenschaften der Flavine dar. Im Speziellen wird die Bildung der übergeordneten Strukturen der Flavindimere über nicht kovalente Wechselwirkungen angestrebt und in Rahmen der Kooperation werden verschiedene Messtechniken angewendet, um diese zu charakterisieren.

Zur Charakterisierung aller dargestellten Systeme sollen neben der Absorptionsspektroskopie und dem Circular dichroismus vor allem Fluoreszenzmessungen und die Untersuchung des elektrochemischen Verhaltens mittels Cyclovoltammetrie, Squarewave-Voltammetrie und Spektroelektrochemie herangezogen werden. Im Rahmen der Kooperation werden andere Messtechniken wie zeitaufgelöste Fluoreszenzspektroskopie zur Verifikation der Prozesse innerhalb der synthetisierten Systeme, Elektronenspinresonanz, und Rasterkraftmikroskopie (AFM) angesetzt.

Literaturverzeichnis

- [1] D. Voet, J. G. Voet, *Biochemie*, VCH, Weinheim, **1994**.
- [2] M. Gratzel, J.-E. Moser, *Electron Transfer in Chemistry* **2001**, 5, 589.
- [3] V. Balzani, A. Credi, M. Venturi, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1997**, 1, 506.
- [4] K. J. Hellingwerf, *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **2000**, 54, 94.
- [5] T. Iwata, S. Tokutomi, H. Kandori, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 11840.
- [6] M. Fontecave, S. Ollagnier-de-Choudens, E. Mulliez, *Chem. Rev.* **2003**, 103, 2149.
- [7] P. Drossler, W. Holzer, A. Penzkofer, P. Hegemann, *Chem. Phys.* **2003**, 286, 409.
- [8] J. M. Christie, W. R. Briggs, *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 11457.
- [9] M. Ivanchenko, R. Stanewsky, J. M. Giebultowicz, *J. Biol. Rhyth.* **2001**, 16, 205.
- [10] R. Stanewsky, *Cell & Tissue Research* **2002**, 309, 11.
- [11] M. Menaker, *Science* **2003**, 299, 213.
- [12] A. R. Cashmore, J. A. Jarillo, Y.-J. Wu, D. Liu, *Science* **1999**, 284, 760.
- [13] A. Sancar, *Annu. Rev. Biochem.* **2000**, 69, 31.
- [14] A. Sancar, *Chem. Rev.* **2003**, 103, 2203.
- [15] P. Emery, R. Stanewsky, J. C. Hall, M. Rosbash, *Nature* **2000**, 404, 456.
- [16] D. Rieger, R. Stanewsky, C. Helfrich-Foerster, *J. Biol. Rhyth.* **2003**, 18, 377.
- [17] J. M. Christie, M. Salomon, K. Nozue, M. Wada, W. R. Briggs, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1999**, 96, 8779.
- [18] M. Salomon, J. M. Christie, E. Knieb, U. Lempert, W. R. Briggs, *Biochemistry* **2000**, 39, 9401.
- [19] W. R. Briggs, J. M. Christie, M. Salomon, *Antioxidants and Redox Signaling* **2001**, 3, 775.

- [20] S. Crosson, K. Moffat, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2001**, 98, 2995.
- [21] M. Salomon, W. Eisenreich, H. Dürr, E. Schleicher, E. Knieb, V. Massey, W. Rüdiger, F. Müller, A. Bacher, G. Richter, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2001**, 98, 12357.
- [22] P. Hegemann, M. Fuhrmann, S. Kateriya, *Journal of Phycol.* **2001**, 37, 668.
- [23] W. Holzer, A. Penzkofer, M. Fuhrmann, P. Hegemann, *Photochemistry and Photobiology* **2002**, 75, 479.
- [24] S. D. M. Islam, A. Penzkofer, P. Hegemann, *Chem. Phys.* **2003**, 293, 397.
- [25] S. D. M. Islam, A. Penzkofer, P. Hegemann, *Chem. Phys.* **2003**, 291, 97.
- [26] W. Holzer, A. Penzkofer, T. Susdorf, M. Alvarez, S. D. M. Islam, P. Hegemann, *Chem. Phys.* **2004**, 302, 105.
- [27] T. E. Swartz, S. B. Corchnoy, J. M. Christie, J. W. Lewis, I. Szundi, W. R. Briggs, R. A. Bogomolni, *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 36493.
- [28] T. Kottke, Diss. thesis, Universität Regensburg (Regensburg), **2003**.
- [29] T. Kottke, J. Heberle, D. Hehn, B. Dick, P. Hegemann, *Biophys. J.* **2003**, 84, 1192.
- [30] Y. Han, S. Braatsch, L. Osterloh, G. Klug, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2004**, 101, 12306.
- [31] D. C. Nelson, J. Lasswell, L. E. Rogg, M. A. Cohen, B. Bartel, *Cell* **2000**, 101, 331.
- [32] H. Falk, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, 38, 3117.
- [33] F. Lenci, F. Ghetti, P.-S. Song, *Comprehensive Series in Photosciences* **2001**, 1, 475.
- [34] R. M. Williams, S. E. Braslavsky, *Comprehensive Series in Photosciences* **2001**, 1, 15.
- [35] A. B. Uzdensky, D. E. Bragin, M. S. Kolosov, A. Kubin, H. G. Loew, J. Moan, *J. Photochem. Photobiol. B: Biology* **2003**, 72, 27.
- [36] C. Walsh, *Acc. Chem. Res.* **1980**, 13, 148.
- [37] M. Fontecave, R. Eliasson, P. Reichard, *J. Biol. Chem.* **1987**, 262, 12325.
- [38] P. Gaudu, D. Touati, V. Niviere, M. Fontecave, *J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 8182.
- [39] F. Fieschi, V. Niviere, C. Frier, J.-L. Décourt, M. Fontecave, *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 30392.
- [40] V. Niviere, M. A. Vanoni, G. Zanetti, M. Fontecave, *Biochemistry* **1998**, 37, 11879.
- [41] V. Niviere, F. Fieschi, J. Decourt, M. Fontecave, *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 18252.
- [42] M. Ingelman, S. Ramaswamy, V. Niviere, M. Fontecave, H. Eklund, *Biochemistry* **1999**, 38, 7040.
- [43] F. M. Raymo, S. Giordani, *Org. Lett.* **2001**, 3, 3475.
- [44] B. L. Feringa, *Acc. Chem. Res.* **2001**, 34, 504.
- [45] F. M. Raymo, *Adv. Mater.* **2002**, 14, 401.
- [46] M. H. Al-Sayah, N. R. Branda, *Org. Lett.* **2002**, 4, 881.
- [47] A. J. Myles, T. J. Wigglesworth, N. R. Branda, *Adv. Mater.* **2003**, 15, 745.
- [48] C. Trieflinger, Diss. thesis, Universität Regensburg (Regensburg), **2004**.
- [49] N. Hampp, *Chem. Rev.* **2000**, 100, 1755.
- [50] H.-G. Choi, W.-C. Jung, J. Min, W. H. Lee, J.-W. Choi, *Biosens. Bioelectr.* **2001**, 16, 925.
- [51] J. Takeda, S. Ota, M. Hirobe, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 7677.
- [52] V. Y. Shafirovich, E. E. Batova, P. P. Levin, *J. Chem. Soc., FT* **1992**, 88, 935.
- [53] D. Gust, T. A. Moore, A. L. Moore, A. N. Macpherson, A. Lopez, J. M. DeGraziano, I. Gouni, E. Bittersmann, G. R. Seely, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 11141.
- [54] A. Osuka, H. Yamada, K. Maruyama, N. Mataga, T. Asahi, M. Ohkouchi, T. Okada, I. Yamazaki, Y. Nishimura, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 9439.
- [55] D. Gust, T. A. Moore, A. L. Moore, L. Leggett, S. Lin, J. M. DeGraziano, R. M. Hermant, D. Nicodem, P. Craig, et al., *J. Phys. Chem.* **1993**, 97, 7926.
- [56] R. M. Hermant, P. A. Liddell, S. Lin, R. G. Alden, H. K. Kang, A. L. Moore, T. A. Moore, D. Gust, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 2080.
- [57] T. A. Moore, D. Gust, A. L. Moore, *Pure Appl. Chem.* **1994**, 66, 1033.
- [58] A. L. Moore, T. A. Moore, D. Gust, J. J. Silber, L. Sereno, F. Fungo, L. Otero, G. Steinberg-Yfrach, P. A. Liddell, S. C. Hung, H. Imahori, S. Cardoso, D. Tatman, A. N. Macpherson, *Pure Appl. Chem.* **1997**, 69, 2111.
- [59] H. Dugas, *Bioorganic Chemistry*, 3rd., S. 447-460 ed., Springer-Verlag, New York, **1999**.
- [60] D. T. Hermann, A. C. Schindler, K. Polborn, R. Gompper, S. Stark, A. B. J. Parusel, G. Grabner, G. Kohler, *Chem. Eur. J.* **1999**, 5, 3208.
- [61] S. Shinoda, H. Tsukube, Y. Nishimura, I. Yamazaki, A. Osuka, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 3757.
- [62] R. S. Loewe, K.-y. Tomizaki, F. Chevalier, J. S. Lindsey, *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2002**, 6, 626.
- [63] E. Marino-Ochoa, R. Palacios, G. Kodis, A. N. Macpherson, T. Gillbro, D. Gust, T. A. Moore, A. L. Moore, *Photochemistry and Photobiology* **2002**, 76, 116.
- [64] M.-S. Choi, T. Aida, H. Luo, Y. Araki, O. Ito, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 4194.

- [65] S. L. Gould, G. Kodis, R. E. Palacios, L. de la Garza, A. Brune, D. Gust, T. A. Moore, A. L. Moore, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 10566.
- [66] B. Rytchinski, L. E. Sinks, M. R. Wasielewski, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12268.
- [67] K. S. Cho, Y.-S. Nam, J.-W. Choi, W. H. Lee, J. Choi, N. W. Song, D. Kim, *Coll. Surf. A* **2002**, *202*, 93.
- [68] J. Lang-Feulner, W. Rau, *Photochemistry and Photobiology* **1975**, *21*, 179.
- [69] W. Schmidt, W. L. Butler, *Photochemistry and Photobiology* **1976**, *24*, 71.
- [70] W. Schmidt, W. L. Butler, *Photochemistry and photobiology* **1976**, *24*, 71.
- [71] Z. Shen, J. Strauss, J. Daub, *Chem. Commun.* **2002**, 460.
- [72] B. Giovani, M. Byrdin, M. Ahmad, K. Brettel, *Nat. Struct. Biol.* **2003**, *10*, 489.
- [73] M. S. Cheung, I. Daizadeh, A. A. Stuchebrukhov, P. F. Heelis, *Biophys. J.* **1999**, *76*, 1241.
- [74] D. Medvedev, A. A. Stuchebrukhov, *J. Theor. Biol.* **2001**, *210*, 237.
- [75] A. Lostao, C. Gomez-Moreno, S. G. Mayhew, J. Sancho, *Biochemistry* **1997**, *36*, 14334.
- [76] S. T. Kim, P. F. Heelis, A. Sancar, *Biochemistry* **1992**, *31*, 11244.
- [77] S. M. Butterfield, C. M. Goodman, V. M. Rotello, M. L. Waters, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 724.
- [78] S. Shinkai, G. X. He, T. Matsuda, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 5895.
- [79] S. Shinkai, *Molecular Switches* **2001**, 281.
- [80] S. Shinkai, T. D. James, *Mol. Supramol. Photochem.* **2001**, *7*, 429.
- [81] H.-R. Shen, J. D. Spikes, C. J. Smith, J. Kopecek, *J. Photochem. Photobiol., A* **2000**, *133*, 115.
- [82] F. Lenci, N. Angelini, F. Ghetti, A. Sgarbossa, A. Losi, A. Vecli, C. Viappiani, P. Taroni, A. Pifferi, R. Cubeddu, *Photochemistry and Photobiology* **1995**, *62*, 199.
- [83] N. Angelini, R. Cubeddu, F. Lenci, A. Losi, A. Pifferi, A. Sgarbossa, P. Taroni, A. Vecli, C. Viappiani, *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.* **1997**, *38*, 245.
- [84] T. A. Wells, A. Losi, R. Dai, P. Scott, S.-M. Park, J. Golbeck, P.-S. Song, *J. Phys. Chem. A* **1997**, *101*, 366.
- [85] A. R. Pease, J. O. Jeppesen, J. F. Stoddart, Y. Luo, C. P. Collier, J. R. Heath, *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 433.
- [86] M. Venturi, A. Credi, V. Balzani, *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *185-186*, 233.
- [87] V. Balzani, M. Venturi, A. Credi, *Molecular Devices and Machines*, Wiley-VCH, Weinheim, **2003**.
- [88] M. C. Jimenez-Molero, C. Dietrich-Buchecker, J.-P. Sauvage, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 1456.
- [89] J.-M. Lehn, *Supramolecular Chemistry*, VCH, Weinheim, **1995**.
- [90] J.-M. Lehn, *Polym. Int.* **2002**, *51*, 825.
- [91] L. Brunsveld, B. J. B. Folmer, E. W. Meijer, R. P. Sijbesma, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 4071.
- [92] H. Dugas, in *Bioorganic Chemistry*, 3rd. ed., Springer-Verlag, New York, **1999**, pp. 593.
- [93] V. I. Gordeliy, J. Labahn, R. Moukhametzianov, R. Efremov, J. Granzin, R. Schlesinger, G. Bueldt, T. Savopol, A. J. Scheidig, J. P. Klare, M. Engelhard, *Nature* **2002**, *419*, 484.
- [94] Y. Shichida, *Retinal Basis of Vision* **1999**, 23.
- [95] J. L. Spudich, *Molec. Microbiol.* **1998**, *28*, 1051.
- [96] M. Chabre, P. Deterre, *Eur. J. Biochem.* **1989**, *179*, 255.
- [97] S. Kateriya, G. Nagel, E. Bamberg, P. Hegemann, *News in Physiological Sciences* **2004**, *19*, 133.
- [98] M. Fuhrmann, W. Deininger, S. Kateriya, P. Hegemann, *Comprehensive Series in Photochemistry & Photobiology* **2003**, *3*, 124.
- [99] G. Nagel, T. Szellas, W. Huhn, S. Kateriya, N. Adeishvili, P. Berthold, D. Ollig, P. Hegemann, E. Bamberg, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **2003**, *100*, 13940.
- [100] C. Fankhauser, J. Chory, *Ann. rev. cell develop. biol.* **1997**, *13*, 203.
- [101] S. Stoelzle, T. Kagawa, M. Wada, R. Hedrich, P. Dietrich, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **2003**, *100*, 1456.
- [102] E. Schleicher, R. M. Kowalczyk, C. W. M. Kay, P. Hegemann, A. Bacher, M. Fischer, R. Bittl, G. Richter, S. Weber, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 11067.
- [103] M. N. Paddon-Row, in *Stimulating Concepts in Chemistry* (Eds.: F. Vögtle, J. F. Stoddart, M. Shibasaki), Wiley-VCH, Weinheim, **2000**, pp. 267.
- [104] T. Forster, *Ann. Physik* **1948**, *2*, 55.
- [105] D. L. Dexter, *J. Phys. Chem.* **1953**, *21*, 836.
- [106] M. N. Paddon-Row, in *Electron Transfer in Chemistry* (Ed.: V. Balzani), Wiley-VCH, Weinheim, **2000**, p. 179.
- [107] M. Le Bret, J. B. Le Pecq, J. Barbet, B. P. Roques, *Nucleic Acids Research* **1977**, *4*, 1361.
- [108] U. Diederichsen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *36*, 2317.

- [109] Y. A. Berlin, A. L. Burin, M. A. Ratner, *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*, 443.
- [110] A. A. Voityuk, K. Siriwong, N. Roesch, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2001**, *3*, 5421.
- [111] B. Giese, S. Wessely, *Chem. Commun.* **2001**, 2108.
- [112] Y. A. Berlin, A. L. Burin, M. A. Ratner, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 260.
- [113] X.-Q. Li, H. Zhang, Y. Yan, *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 9563.
- [114] F. D. Lewis, R. L. Letsinger, M. R. Wasielewski, *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 159.
- [115] A. R. Pike, L. H. Lie, R. A. Eagling, L. C. Ryder, S. N. Patole, B. A. Connolly, B. R. Horrocks, A. Houlton, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 615.
- [116] H.-A. Wagenknecht, *Chem. in unserer Zeit* **2002**, *36*, 318.
- [117] M. R. D'Orsogna, R. Bruinsma, *Phys. Rev. Lett.* **2003**, *90*, 078301/1.
- [118] C.-M. Chang, A. H. Castro Neto, A. R. Bishop, *Chem. Phys.* **2004**, *303*, 189.
- [119] T. Takada, K. Kawai, X. Cai, A. Sugimoto, M. Fujitsuka, T. Majima, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 1125.
- [120] M. D. Ward, *Chem. Soc. Rev.* **1997**, *26*, 365.
- [121] A. Niemz, V. M. Rotello, *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 44.
- [122] C. Behrens, L. T. Burgdorf, A. Schwögler, T. Carell, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 1841.
- [123] T. Carell, C. Behrens, M. Ober, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 3281.
- [124] C. Behrens, T. Carell, *Chem. Commun.* **2003**, 1632.
- [125] J. Griffiths, *Chem. in unserer Zeit* **1993**, *27*, 21.
- [126] H. Zollinger, *Color Chemistry.*, 3rd ed., WILEY-VCH, Weinheim, **2003**.

2 Cryptochrom-Modellsysteme

2.1 Einführung

Wie bereits erwähnt, haben photosensorische Rezeptoren eine andere Funktion, als Chlorophyll in der pflanzlichen Photosynthese (Energieerzeugung)^[1]. Sie ermöglichen die Anpassung der Organismen an die Lichtverhältnisse in der Umgebung. Dabei wird je nach Intensität und Farbe des Lichts ein entsprechendes Signal erzeugt und weitergeleitet. Zu den vielen natürlichen Enzymen, die durch Lichtabsorption gesteuert werden, gehören auch Cryptochrome, welche als lichtsensitiven Cofaktor Flavin enthalten. Cryptochrome sind an der lichtregulierten Steuerung des Circadianzyklus von Säugetieren beteiligt.^[2, 3] Unter einem Circadianzyklus bzw. -rhythmus versteht man Oszillationen biochemischer, physiologischer Prozesse und Verhaltensprozesse des Organismus mit 24 (oder 15, 13, 9) stündiger Periodizität. Cryptochrome synchronisieren dabei den Circadianrhythmus von Säugetieren mit dem Tageslicht. Bei abnormaler Funktion des Circadianzyklus können folgende Krankheitsbilder beobachtet werden: Jet Lag, Brustkrebs bei Frauen und Depressionen aufgrund des Lichtmangels.^[4] Daneben sind Cryptochrome auch in der Photoregulierung des Pflanzenwachstums bedeutsam.^[3]

2.1.1 Aufbau und Funktion

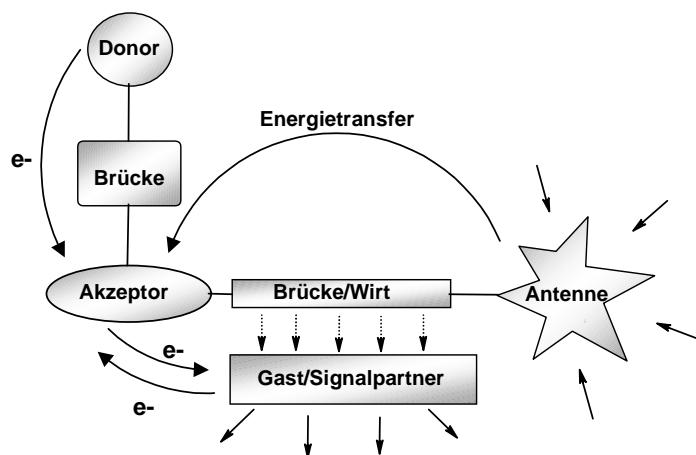
Cryptochrome bestehen aus dem Apoprotein, einer Antenneneinheit (Methylentetrahydrofolat oder 5-Deazaflavin) und einem Isoalloxazin in Form von Flavinadenosindinukleotid (FAD) als Funktionseinheit.^[5] Nach Lichtabsorption durch die Antenne und anschließendem Energietransfer zum FAD, wird das Signal entweder über Energie- oder Elektronentransfer auf weitere Enzyme übertragen.^[6]

Strukturell sind Cryptochrome mit Photolyasen (Reparaturenzyme der beschädigten DNA) verwandt. Sie zeigen eine 25-40%ige Übereinstimmung mit der (6-4)-Photolyase.^[7] FAD kann bekanntlich in drei verschiedenen Redoxzuständen auftreten, nämlich der oxidierten Form, der einfach reduzierten (als protoniertes, neutrales Radikal oder nicht protoniertes Radikalanion) und als zweifach reduzierte Spezies (als proto-

nierte, neutrale Form oder nicht protoniertes Dianion). Die aktive Form im Cryptochrom ist die zweimal reduzierte anionische Form.

2.1.2 Modellsysteme

Die Synthese und Untersuchung von Modellsystemen wichtiger biologischer Prozesse, wie z.B. der Photosynthese^[8-14] oder der DNA-Photolyase^[15-18], ist ein wichtiges Forschungsgebiet. Modellsysteme auf der Basis von Cryptochrom können dazu beitragen, ein besseres Verständnis für die zwei Hauptprozesse Energie und Elektronentransfer zu erhalten. Dementsprechend sind die nachfolgenden Systeme aus einem Donor-, Akzeptor- und Antennenteil aufgebaut. Desweiteren wurde eine kurze Erkennungseinheit für Wirt/Gast-Wechselwirkungen eingebaut, um intermolekulare Signalübertragungen simulieren zu können. Der prinzipielle Aufbau des Modellsystems ist in *Schema 2.1-1* dargestellt.



Schema 2.1-1: Darstellung eines sensorischen Photorezeptors auf der Basis von Cryptochrom.

Für die Konversion der Lichtenergie in chemische Energie in Cryptochromen sind entweder 5-Deazaflavine oder Methylentetrahydrofolat (MTHF) zuständig.^[6, 7] In den Modellsystemen wurde neben Deazaflavin auch Pyren als Antenne (Lichtenergiesammler) wegen seiner hohen Quantenausbeute und vor allem seiner langen Fluoreszenzlebensdauer gewählt. Als Funktionseinheit wurde wie im biologischen System das Isoalloxazin gewählt. Ein Problem ist allerdings, dass im Cryptochrom reduziertes Flavin als Elektronendonator auftritt. Reduzierte Flavine sind aber unter Normalbedingungen (außerhalb der Proteinhülle) nicht stabil, weswegen im Grundzustand der hier beschriebenen Modelle die oxidierte Form des Flavins verwendet wird. Durch Verbrückung des Fla-

vins zu einem Phenothiazin, das nach photonischer Anregung als Elektronendonator das Flavin reduzieren kann, ist eine Annäherung an die tatsächlichen Verhältnisse im Cryptochrom möglich. *Abbildung 2.1-1* zeigt sämtliche in diesem Kapitel dargestellten und untersuchten Verbindungen.

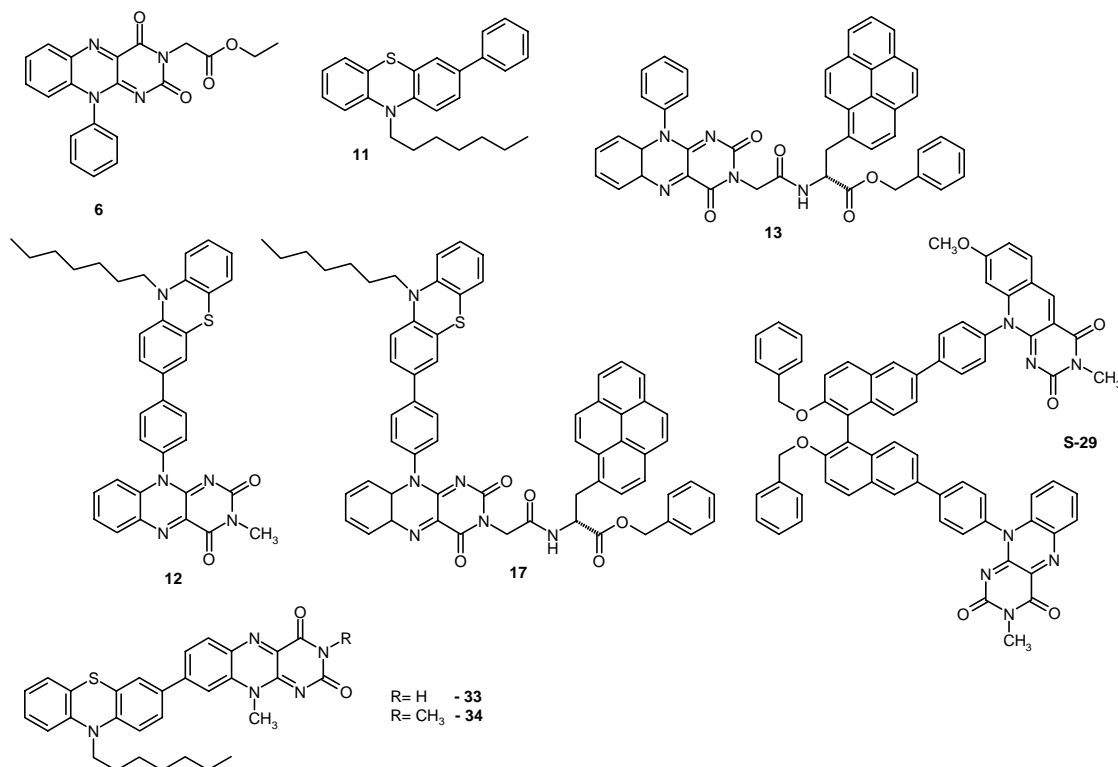


Abb. 2.1-1: Synthetisierte und untersuchte Modellsysteme.

2.2 Synthese

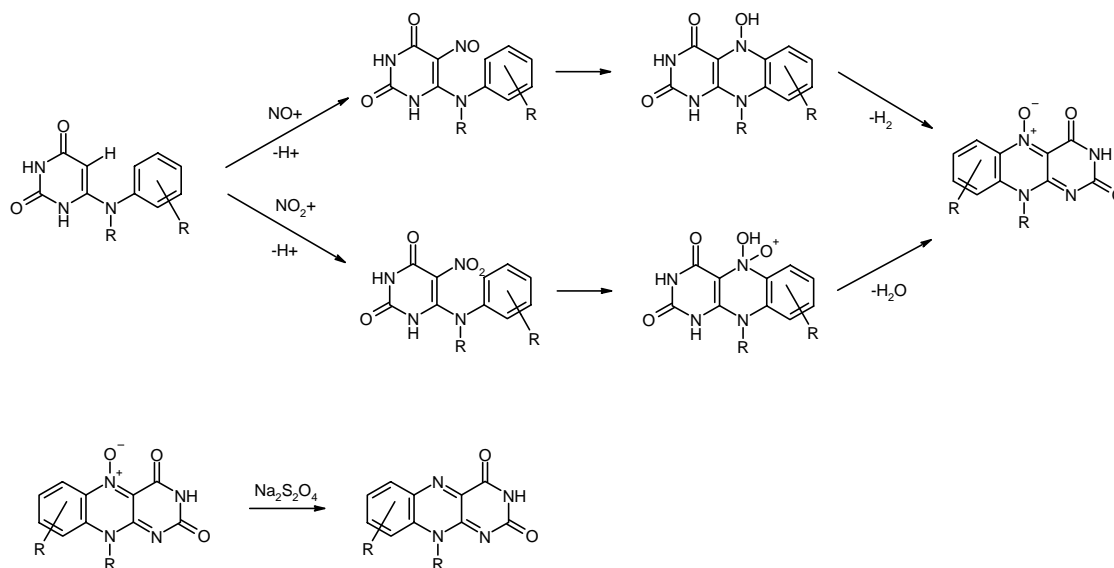
Die Synthese der Phenothiazin-Flavin-Pyren-Deazaflavin-Konjugate verläuft über die Darstellung der einzelnen Chromophore (Konjugatbausteine), im speziellen über die Isoalloxazin-^[19, 20] und Deazaflavinsynthese,^[21-24] sowie Funktionalisierung von Phenothiazin. Die Verknüpfung erfolgt mittels Stille-Kupplung^[25] oder EDC-HOAt-Kupplung^[26].

2.2.1 Synthese des Isoalloxazins

Klassische Isoalloxazinsynthesen wurden von Yoneda^[27] und Cowden^[28] beschrieben. Dabei lässt man ein N-Uracilinderivat mit HNO₂ unter Entstehen von Nitro- bzw. Nitrosouracil reagieren. Im nächsten Schritt kondensiert die Nitro- bzw. Nitrosogruppe mit dem N-Uracilinderivat zu einem dreigliedrigen Isoalloxazingrundkörper. Nach

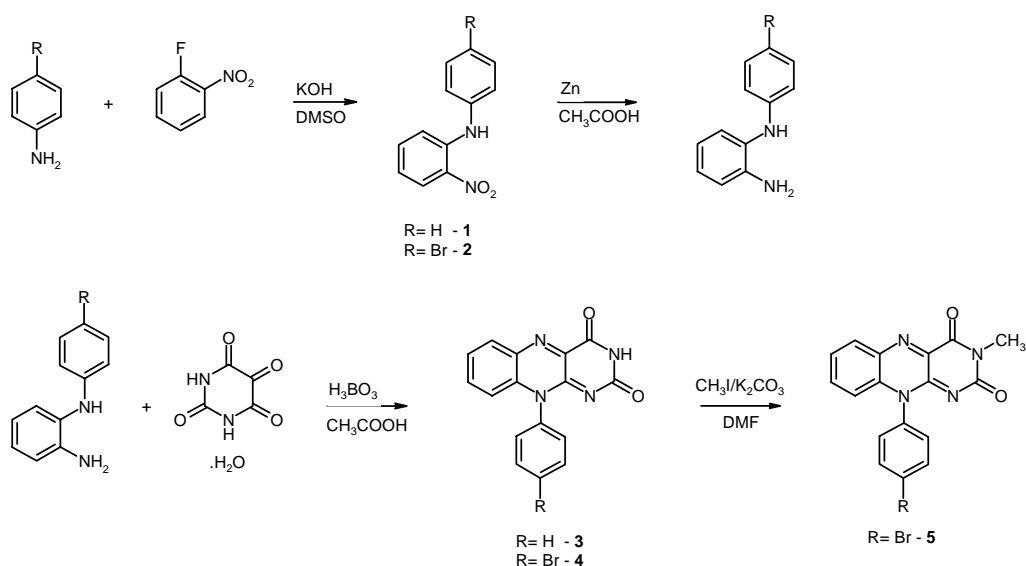
Wasser- bzw. Wasserstoffabspaltung und Reduktion erhält man das Isoalloxazinderivat.

(Schema 2.2-1)



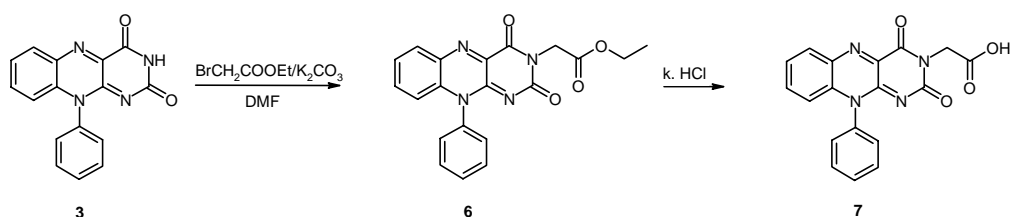
Schema 2.2-1: Synthese des Isoalloxazingrundkörpers nach Yoneda.

Ein weiterer Syntheseweg, welcher auch in dieser Arbeit verfolgt wird, sieht die Kondensation von Alloxan-Hydrat mit N-Arylphenylenediaminderivat in Essigsäure unter Katalyse von Borsäure vor.^[19, 20] Die Darstellung der N-Arylphenylenediamine erfolgt durch die Reaktion von einem Anilinderivat mit 2-Fluornitrobenzol im basischen Milieu (unter Entstehung eines Meisenheimer-Komplexes als Zwischenstufe). Anschließend wird die Nitrogruppe reduziert. Als einfachste Methode bietet sich die Reduktion mit Zink in heißer Essigsäure an. Die anschließende Kondensation mit Alloxan-Hydrat und Borsäure in Essigsäure unter Sauerstoffausschluss liefert das N-10-Arylisoalloxazin. Auf diese Weise wurden die Verbindungen **3,4** und **5** synthetisiert (Schema 2.2-2)



Schema 2.2-2: Synthese der Isoalloxazinbausteine **3**, **4** und **5**.

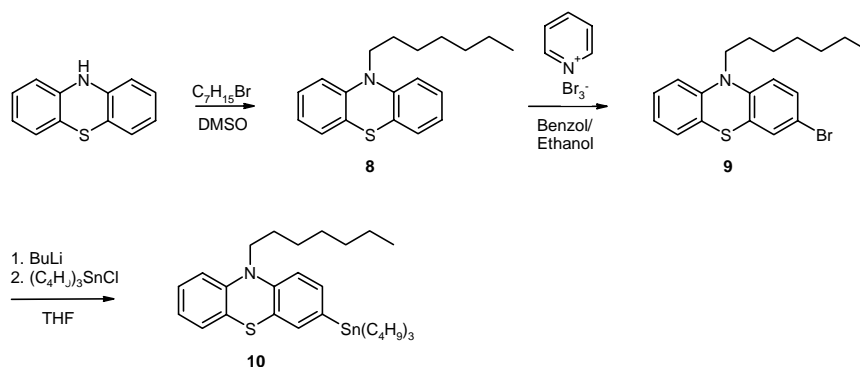
Die Bromfunktionalität der Isoalloxazinderivate **4** und **5** ermöglicht die C-C-Kupplung an dieser Position mit anderen Konjugatbausteinen. Eine weitere Möglichkeit der Verknüpfung entsteht für **3** und **4** durch Funktionalisierung an der N(3)-Position, wie in *Schema 2.2-3* gezeigt wird.



Schema 2.2-3: Funktionalisierung der Isoalloxazine an der N(3)-Position.

2.2.2 Funktionalisierung des Phenothiazins

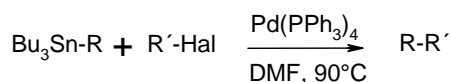
Die Derivatisierung des Phenothiazins erfolgt im ersten Schritt durch die Reaktion von Alkylhalogeniden^[29, 30] oder Säurechloriden^[31] am Stickstoffatom des Phenothiazins, dessen Reaktivität mit der eines sekundären Amins zu vergleichen ist. (*Schema 2.2-4*) Das auf diese Weise dargestellte Derivat **8** wurde in der Folge in 3-Position zu **9** bromiert und anschließend zu **10** stannyliert. **10** dient als Edukt für nachfolgende Stille-Kupplungen.



Schema 2.2-4: Funktionalisierung von Phenothiazin.

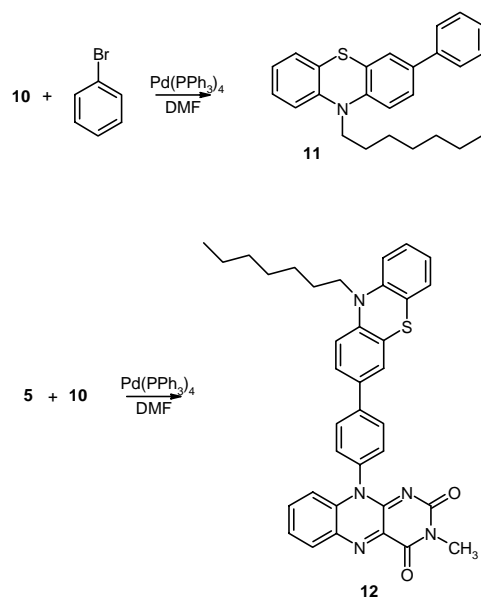
2.2.3 Synthese der Phenothiazin-Isoalloxazin (Donor-Akzeptor) Verbindungen

Die Donor-Akzeptor-Diade **12**, welche Hinweise zu Elektronentransferprozessen zwischen Isoalloxazin und Phenothiazin liefern soll, wurde mittels Palladium katalysierter Aryl-Aryl-Kupplung,^[32-34] synthetisiert. Von der Vielzahl möglicher Kupplungsvarianten wurde die Stille-Kupplung wegen ihrer gewöhnlich hohen Ausbeuten und den milderen Bedingungen gewählt.^[35, 36] Die verwendeten Reaktionsbedingungen^[37] sind in *Schema 2.2-5* dargestellt:



Schema 2.2-5: Stille-Kupplung.

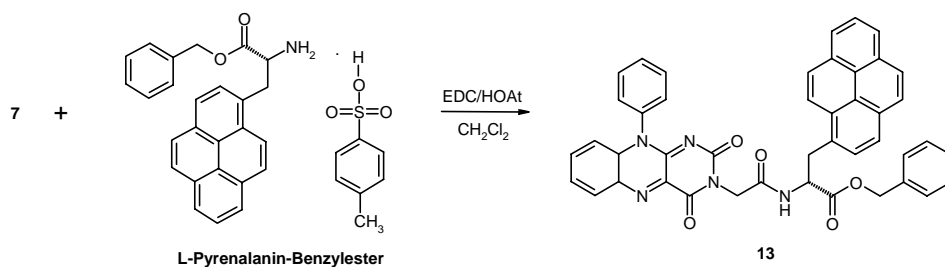
Demnach verläuft die Reaktion zwischen der metallorganischen Phenothiazinverbindung **10** und Flavinhalogenuid **5** zu **12** in mäßigen 24,4%.^[38] (*Schema 2.2-6*) Die Ursache für die niedrige Ausbeute ist die mögliche Komplexierung des Palladiums mit Isoalloxazin an der C(4)O- und N(5)-Position und damit die Deaktivierung des Katalysators. Dafür spricht auch die wesentlich höhere Ausbeute von 87% bei der Synthese von Modellverbindung **11**.



Schema 2.2-6: Synthese der Phenothiazinmodellverbindung **11** und Phenothiazin-Flavin-Diade **12**.

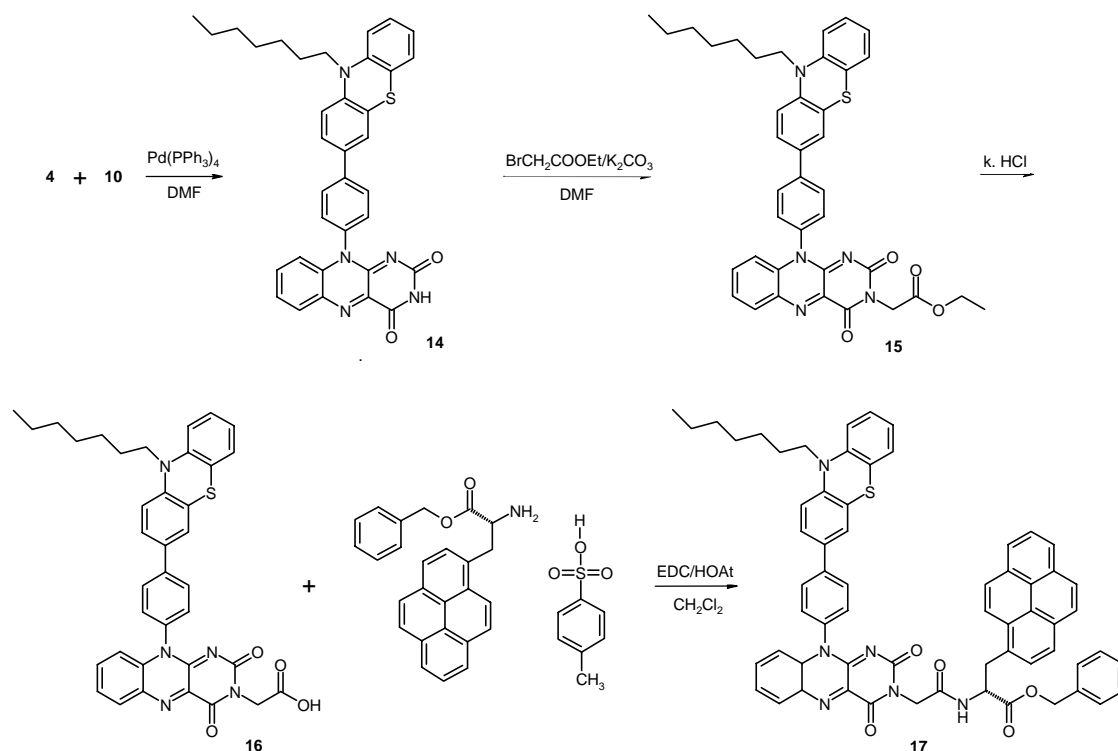
2.2.4 Synthese der Redoxmediator-Antenne-Diade und der Donor-Redoxmediator-Antenne Triade (EDC-HOAt-Kupplung)

Zur Untersuchung des Energietransferprozesses von Antenne (Pyren) zum Redoxmediator (Isoalloxazin) wurde die Isoalloxazin-Pyren-Diade **13** mittels liquid-phase Peptidsynthese (nach der Carbodiimid-Additiv-Methode) aus Isoalloxazinderivat **7** (Säure) und Pyrenaminosäure-Benzylester synthetisiert. (zur Verfügung gestellt von J. Strauß, Universität Regensburg) (*Schema 2.2-7*) Aus mechanistischer Sicht addiert das Anion der Carboxykomponente bei der Carbodiimid-Additiv-Methode an das protonierte Carbodiimid (EDC) unter Ausbildung des hochreaktiven O-Acyllactims. Das zusätzlich eingesetzte reaktive Nukleophil (HOAt) reagiert sehr schnell mit dem O-Acyllactim zum entsprechenden N-Acylpyridiniumion bzw. Aktivester, die in Anwesenheit der Aminokomponente unmittelbar zum Peptidderivat umgesetzt werden.^[26] Diese Methode wurde ausgewählt, da sie eine hohe Produktausbeute liefert und das Racemisierungsrisiko minimiert.



Schema 2.2-7: Synthese der Pyren-Flavin-Diade **13**.

Die Synthese der Pyren-Phenothiazin-Flavin-Triade **17** ist die Kombination o.g. Reaktionen. Zuerst wird mittels der Stille-Kupplung die Phenothiazin-Flavin-Diade **14** aufgebaut. Deren Funktionalisierung ermöglicht die EDC-HOAt-Kupplung zur Pyren-Phenothiazin-Flavin-Triade **17**. (Schema 2.2-8)

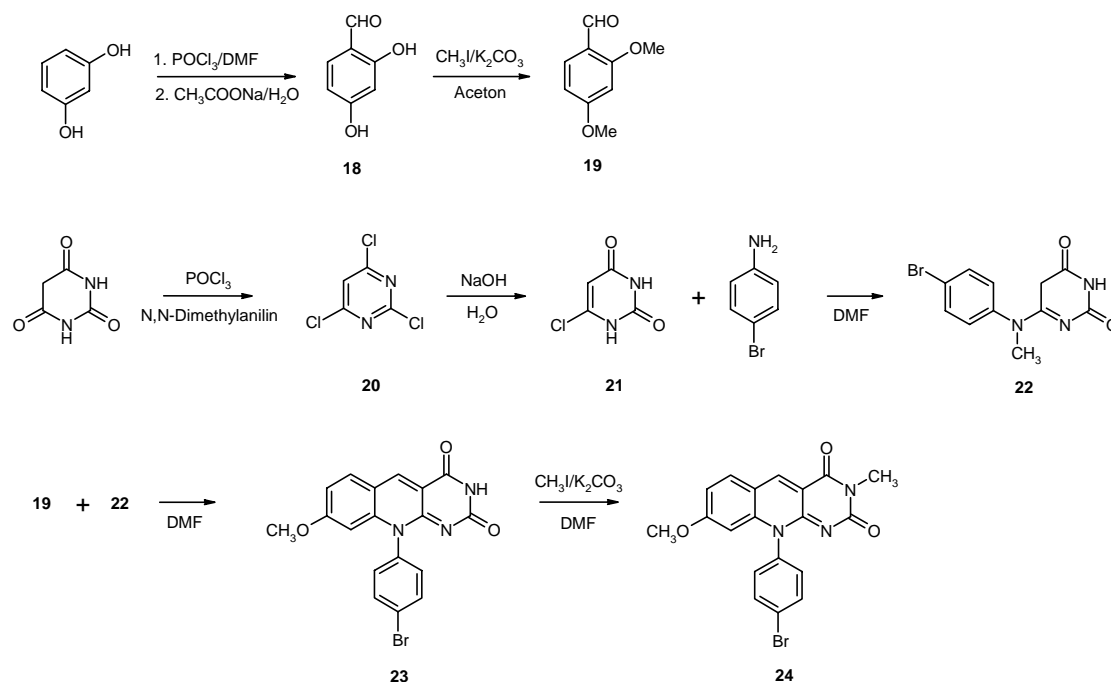


Schema 2.2-8: Synthese der Pyren-Phenothiazin-Flavin-Triade **17**.

2.2.5 Synthese der konjugierten Deazaflavin-Flavin- und Phenothiazin-Flavin-Diaden

Die Synthese des Deazaflavinbausteines **24** geht aus einem Benzaldehydderivat^[39] und 6-Chloruracil^[40] hervor.^[21, 24] Die entstandene Zwischenverbindung **22** wäre auch ein Intermediat in der Flavinsynthese nach *Yoneda*. (s. Kapitel 2.2.1) In der Deazaflavinsynthese erfolgt aber eine Kondensation mit einem Aldehyd- anstatt einer Nitrosogrup-

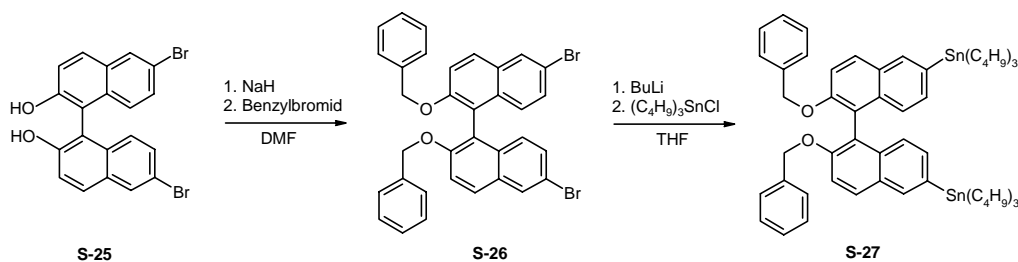
pe. Um die Löslichkeit zu verbessern, wurde im letzten Schritt die Verbindung **23** zu **24** methyliert (*Schema 2.2.-9*).



Schema 2.2-9: Synthese des Deazaflavinbausteins **24**.

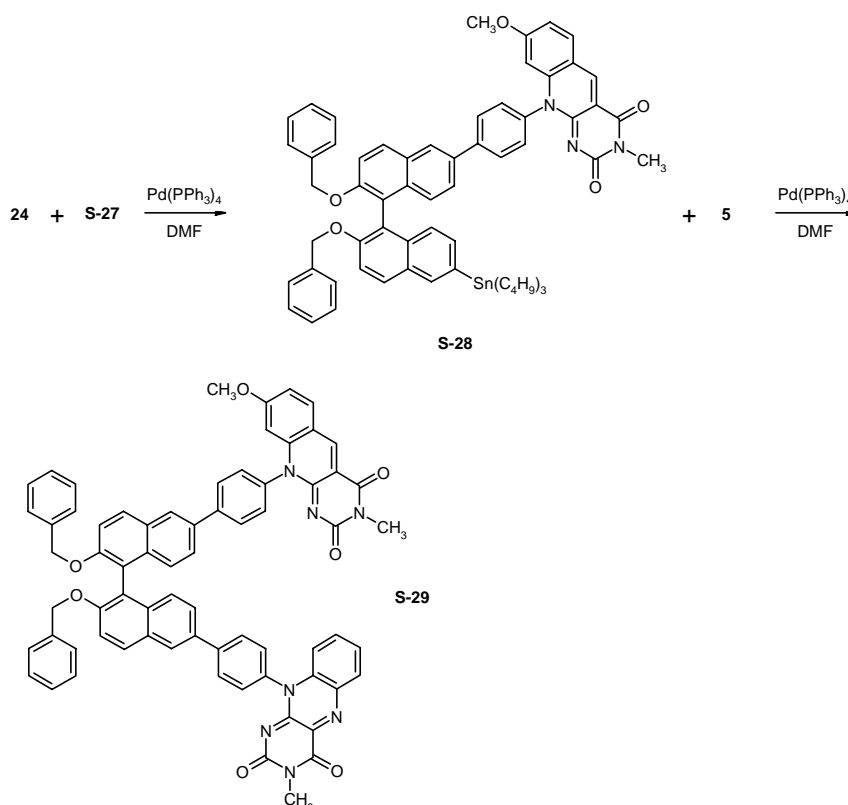
Als Brücke zwischen den beiden Chromophoren in der Deazaflavin-Flavin-Diade **S-29** wurde chirales 1,1'-Binaphthyl ausgewählt. Die Vorteile dieses Bausteines liegen in der Chiralität und in der Möglichkeit der Steuerung des Winkels zwischen den Naphtyleinheiten durch die Substituenten in den 1,1'-Positionen. Damit kann der Abstand zwischen den Chromophoreinheiten variiert werden. Die optische Aktivität der axial chiralen Binaphtyle beruht auf einer eingeschränkten Drehbarkeit um die zentrale Einfachbindung. Die Rotationsbarriere von ca. 100kJ/mol für 1,1'-Binaphtyl wird durch Substituenten in 2,2'-Position so weit erhöht, dass eine Trennung der beiden Enantiomere bei RT möglich ist. Die Synthese des Binaphtylgrundkörpers erfolgt durch eine oxidative Kupplungsreaktion von 6-Brom-2-naphtol.^[41] Nach der Racematspaltung, die durch Bildung eines Einschlusskomplexes mit N-Benzylcinchonidiniumchlorid^[42] durchgeführt wird, sind beide Enantiomere mit ee-Werten >99% zugänglich. Für die geplante Stille-Kupplung mit den Chromophorbausteinen **5** und **24** wurde der S-Enantiomer **S-25** weiter funktionalisiert. Durch Alkylierung beider Hydroxygruppen von **S-25** zu **S-26** verbessert sich erstens die Löslichkeit und zweitens sind die Hydroxygruppen bei der folgenden Lithiierung und der Umsetzung mit Tributylstannylchlorid geschützt. Die

Zwischenstufe **S-27** dient als Ausgangsmaterial für die Stille-Kupplung. (Schema 2.2-10)



Schema 2.2-10: Funktionalisierung des 2,2'-Dihydroxy-1,1'-binaphtyls zu **S-27**.

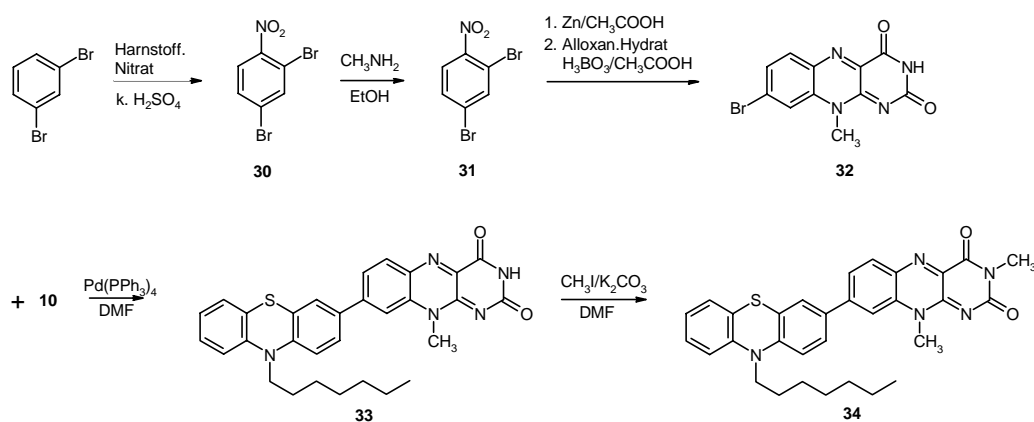
Die Vorstufen **24** und **S-27** werden mittels Stille-Kupplung zum Intermediat **S-28** umgesetzt. Eine zweite Stille-Kupplung mit Vorstufe **5** liefert die Deazaflavin-Flavin-Diade **S-29**. Die Ausbeute der ersten Reaktion ist 43%. Dagegen beträgt die Ausbeute der zweiten Reaktion mäßige 13% aufgrund der Desaktivierung des Katalysators durch Komplexierung mit dem Isoalloxazinbaustein **5**. (Schema 2.2-11)



Schema 2.2-11: Synthese der Diade **S-29**.

Als weitere Modellverbindung zur Untersuchung des Elektronentransfers zwischen Flavin und Phenothiazin wurde die Diade **33** synthetisiert. Die Synthese gelingt durch Stille-Kupplung von 3-Tributylstannyl-N-10-Heptylphenothiazin **10** mit 8-Brom-3-

methylflavin **32**. Diese Kupplung läuft wie bei anderen Flavinderivaten mit einem niedrigen Konversionsgrad. Um die Löslichkeit der Diade **33** zu erhöhen, wurde die Position N(3) des Flavins methyliert. (Schema 2.2-12)



Schema 2.2-12: Synthese der Diaden **33** und **34**.

2.3 Absorptionsspektroskopie

2.3.1 Pyren-Phenothiazin-Flavin-Konjugate

Durch den Vergleich der spektroskopischen Eigenschaften der Konjugate und der einzelnen Subchromophore lässt sich feststellen, in wie weit sich die Bauteile innerhalb des Konjugates elektronisch beeinflussen bzw. welchen Einfluss die Brücke auf die Wechselwirkung zwischen den Chromophoren hat. Eine elektronische Kopplung von Donor- und Akzeptoreinheiten ist im Absorptionsspektrum durch das Auftreten von Banden erkennbar, die nicht durch einfache Überlagerung der Absorptionsspektren der im Molekül enthaltenen Subchromophore entstehen.

Um die Interpretation der Absorptionsspektren der Konjugate zu vereinfachen, werden zuerst die spektroskopischen Eigenschaften der Subchromophoren diskutiert. Als Vergleichsverbindung für den Antennenbauteil dient unfunktionalisiertes Pyren. Pyren zeigt bekanntlich drei Absorptionsbanden mit gut erkennbarer Schwingungsaufspaltung. Die kurzwelligsten Signale bei 232 und 240nm kennzeichnen dabei den $S_0 \rightarrow S_4$ -Übergang. Entsprechend sind die weiteren Banden den $S_0 \rightarrow S_3$ - (262 und 273nm) und $S_0 \rightarrow S_2$ -Übergängen (306, 320, 335nm) zuzuordnen.^[43] Der $S_0 \rightarrow S_1$ Übergang ist verboten und nur durch eine schwache Absorption bei ca. 340nm erkennbar. Der Heterozyklus Phenothiazin stellt den Donorbauteil in den Donor-Akzeptor-Systemen dar. Das Absorptionsspektrum von Phenothiazinderivat **8** ist durch einen starken Übergang bei

255nm und einen schwachen Übergang bei 310nm gekennzeichnet. Durch den Vergleich der Phenothiazine **8** und **11** stellt man fest, dass das Absorptionsspektrum von **11** eine unaufgelöste Bande bei 320nm und eine neue schwache Bande über 400nm aufweist. Diese Bande entsteht aufgrund der Konjugation zwischen Phenothiazin und dem Phenylring, dessen Verdrehung um die einfache Bindung aus der Phenothiazinebene 37° beträgt.^[44]

Stellvertretend für den Akzeptorbauteil der eingesetzten Isoalloxazinderivate wird Verbindung **7** betrachtet. Dessen Absorptionsmaximum bei 445nm entspricht dem $S_0 \rightarrow S_1$ -Übergang und ist durch vibronische Schwingungsstrukturen bei 420 und 470nm geprägt. Die weiteren Maxima entsprechen den $S_0 \rightarrow S_2$ - (338nm) und $S_0 \rightarrow S_3$ -Übergängen (277nm).

Es ist zu ersehen, dass sich die Absorptionsbereiche der Subchromophore, aus denen die Antenna-Donor-Akzeptor-Systeme bestehen, teilweise überlappen. Die genaue Zuordnung der beobachteten Übergänge ist deshalb nicht immer möglich.

Phenothiazin-Flavin-Diade 12

Bei der Phenothiazin-Flavin-Diade **12** ist das Absorptionsmaximum des Phenothiazins langwellig verschoben, was auf Substituenteneffekte zurückzuführen sein könnte. (*Abbildung 2.3-1*)

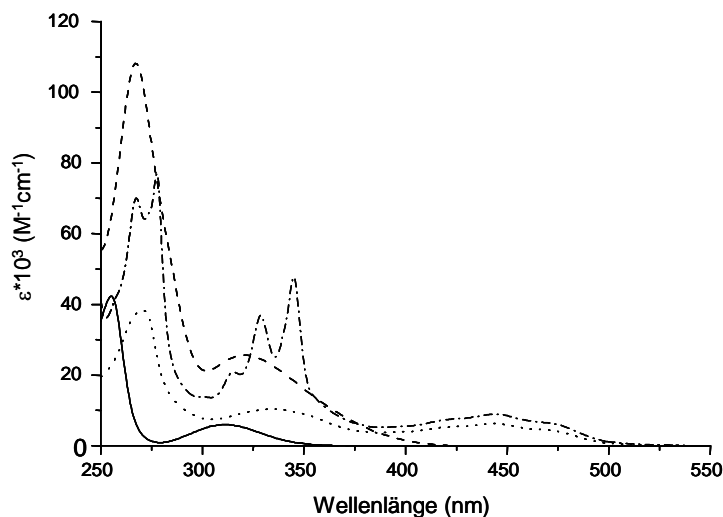


Abb. 2.3-1: Absorptionsspektren von **8**(voll), **11**(---), **12**(...) und **17**(-.-) in Methylenchlorid.

Pyren-Flavin-Diade 13

Das Absorptionsspektrum der Pyren-Flavin-Diade **13** ist durch die Absorption des Pyrensubchromophors geprägt, dessen Extinktionskoeffizient das Dreifache im Vergleich zum Isoalloxazinbaustein beträgt. Der Vergleich mit den Spektren von 1-Methylpyren und Flavin **6** zeigt, dass sich die Spektren unterhalb 360nm überlappen, weshalb eine selektive Anregung des Pyrens nicht möglich ist. Der Flavinteil kann dagegen bei 440nm exklusiv angeregt werden. (Abbildung 2.3-2)

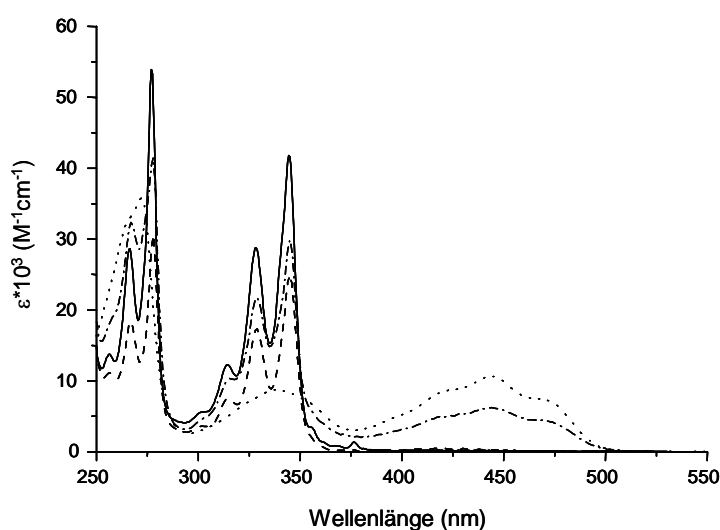


Abb. 2.3-2: Absorptionsspektren von 1-Methylpyren(voll), 1-Acetylpyren(---), **6**(...) und **13**(-.-) in Methylenchlorid.

Pyren-Phenothiazin-Flavin-Diade 17

Die spektroskopischen Eigenschaften der Pyren-Phenothiazin-Flavin-Diade **17** stehen im Einklang mit Ergebnissen der Diaden **12** und **13**. Die längstwellige Absorption stammt vom Isoalloxazin. Der Extinktionskoeffizient ist bei **17** in etwa wie bei **12**. Er ist aber bei 345nm bedeutend kleiner als die Summe von dessen Bausteinen (**12** und Pyren). Ähnliches geschieht bei 275nm. (Abbildung 2.3-1)

Die Absorptionsmaxima und die Extinktionskoeffizienten sind in *Tabelle 2.3-1* zusammengefasst.

| Verbindung | λ_{\max} (nm) | ε ($M^{-1}cm^{-1}$) |
|---------------|-----------------------|-----------------------------------|
| 1-Methylpyren | 376 | 14400 |
| | 345 | 41600 |
| | 277 | 53600 |
| 6 | 445 | 10700 |
| | 338 | 8800 |
| | 273 | 35600 |
| 8 | 310 | 6200 |
| | 255 | 42300 |
| 11 | 321 | 25500 |
| | 267 | 108000 |
| 12 | 445 | 6500 |
| | 335 | 10300 |
| | 271 | 38400 |
| 13 | 445 | 6400 |
| | 345 | 29800 |
| | 277 | 41500 |
| 17 | 445 | 9200 |
| | 345 | 47600 |
| | 277 | 76600 |
| | 267 | 70200 |

Tabelle 2.3-1: Absorptionsmaxima und die Extinktionskoeffizienten der Konjugate und Bausteine in Methylenchlorid.

2.3.2 Deazaflavin-Flavin-Diade S-29

Das Absorptionsspektrum der Deazaflavin-Flavin-Diade **S-29** ist durch eine starke Bande im Bereich von 360 bis 490nm mit dem Maximum bei 414nm geprägt. Beim Vergleich mit dem Absorptionsspektrum einer 1:1 Mischung von **5** ($\varepsilon_{438}=10562M^{-1}cm^{-1}$) und **24** ($\varepsilon_{393}=21268M^{-1}cm^{-1}$) ergibt sich, dass in diesem Bereich das Spektrum von **S-29** die Superposition der Bausteine ist. Im UV-Bereich kommt zu dieser Überlagerung noch der Beitrag der Binaphthyl- und Phenylgrundkörper. (Abbildung 2.3-3) Die Absorptionsmaxima bei 414nm sowie bei 395nm sind hauptsächlich auf das Deazaflavin (**24**) zurückzuführen. Die Absorption des Flavins (**5**) ist aufgrund des niedrigeren Extinktionskoeffizienten nur als leichte Schulter bei 445 und 474nm zu sehen. Die Berechnungen zeigen, dass die gemessenen und berechneten (Summe der ε -Werte von **5** und **24** im 1:1 Verhältnis) Extinktionkoeffizienten bei $\lambda_{\max}=395nm$ und $\lambda_{\max}=413nm$ ($\varepsilon_{395}=26437M^{-1}cm^{-1}$, $\varepsilon_{413}=28305M^{-1}cm^{-1}$) übereinstimmen. Das heißt, dass keine Wechselwirkung zwischen den beiden Chromophoren stattfindet.

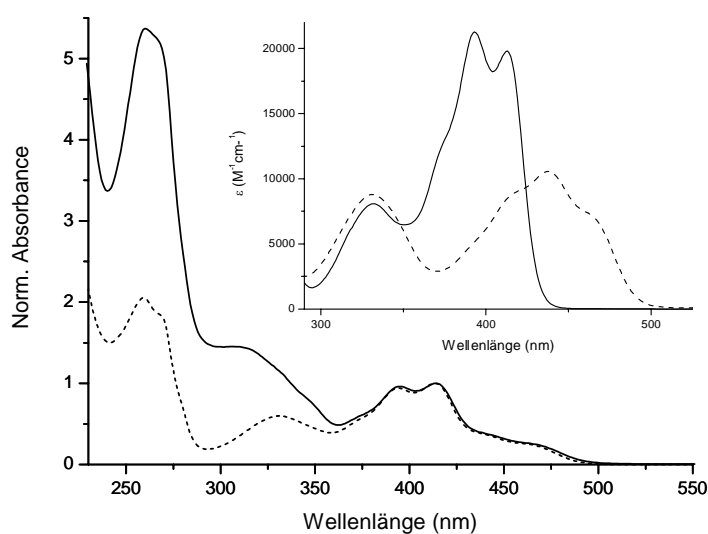


Abb. 2.3-3: Normierte Absorptionsspektren von **S-29** (voll, 10^{-5}M) und 1:1 Mischung dessen Bausteine **5** und **24** (... , beide $5 \cdot 10^{-6}\text{M}$) in Acetonitril; inset: Absorptionsspektren von **24** (voll) und **5** (---).

Das CD-Spektrum der Verbindung **S-29** ist in *Abbildung 2.3-4* dargestellt. Der kurzwellige Bereich ist geprägt durch das positive CD-Couplet des Binaphthylgrundkörpers mit Nulldurchgang bei 262nm. Die Maxima liegen bei 254 und 272nm. Im Bereich der Deazaflavin- und Flavinabsorption ist für **S-29** eine wenig intensive negative CD-Bande (negativer Cotton-Effekt) detektierbar.

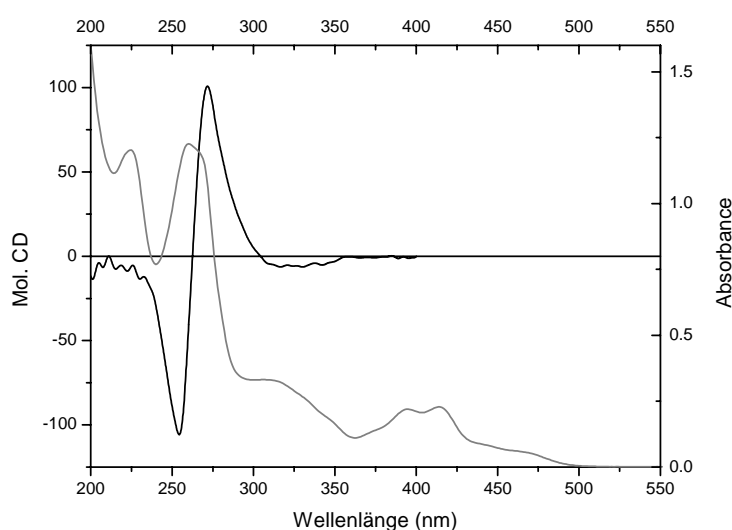


Abb. 2.3-4: CD- (schwarz) und Absorptionsspektrum (grau) von **S-29** in Acetonitril.

2.3.3 Konjugierte Phenothiazin-Flavin-Diade 33 und 34

Die spektroskopischen Untersuchungen der Diaden **33** und **34** zeigen einen enormen Unterschied zu der Diaden **12** und **17**. Das Absorptionsspektrum ist nicht bloß eine Superposition der Spektren von Flavin und Phenothiazin, sondern es taucht eine neue, bathochrom verschobene Bande auf (**33**: $\lambda_{\max} = 482\text{nm}$, $\epsilon = 11990\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$; **34**: $\lambda_{\max} = 480\text{nm}$, $\epsilon = 12463\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, beide in Acetonitril). (Abbildung 2.3-5)

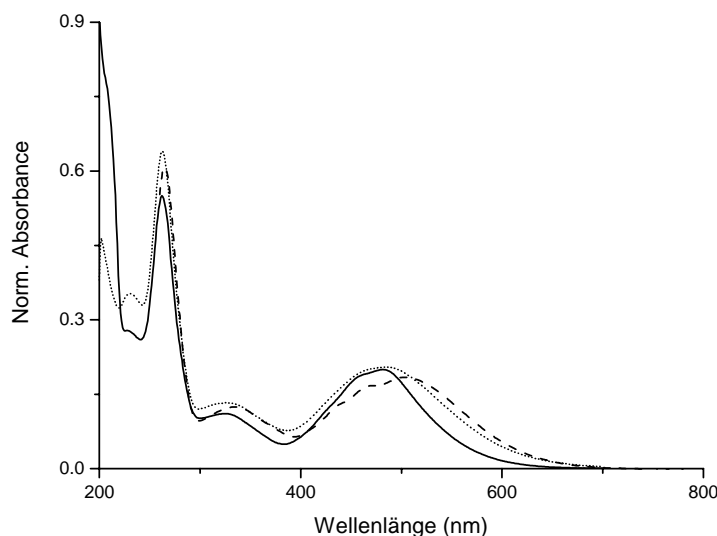
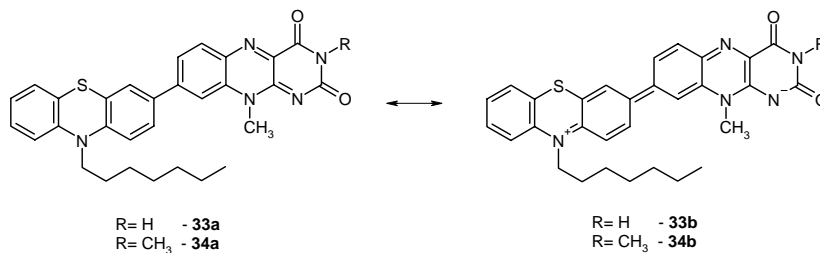


Abb. 2.3-5: Normierte Absorptionsspektren von **33** in Acetonitril (voll), Methanol (...) und Methylenchlorid (---).

Das Maximum dieser Bande ist leicht lösungsmittelabhängig. So verschiebt es sich bei den Diaden **33** und **34** mit sinkender Lösungsmittelpolarität leicht bathochrom. (Abbildung 2.3-6) Diese negative Solvatochromie könnte auf einen Charge-Transfer (CT) zwischen Flavin und Phenothiazin im Grundzustand hindeuten. (Schema 2.3-1) Die Absorptionsmaxima der CT-Bande sind in Tabelle 2.3-2 zusammengefasst.



Schema 2.3-1: Charge-Transfer-Prozess in Diade **33** und **34**.

| Lösungsmittel | Verbindung 33 λ_{max} (nm) | Verbindung 34 λ_{max} (nm) | $E_T(30)$ (kcal.mol ⁻¹) | E_T für 34 (kcal.mol ⁻¹) |
|-----------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--|---|
| MeOH | 485 | 484 | 55,4 | 55,19 |
| ACN | 482 | 480 | 45,6 | 59,56 |
| Aceton | 479 | 482 | 42,4 | 59,32 |
| MC | 504 | 496 | 40,7 | 57,64 |
| Ethylacetat | 477 | 482 | 38,1 | 59,32 |
| THF | 476 | 479 | 37,4 | 59,69 |
| Diethylether | 476 | 484 | 35,4 | 59,07 |
| Benzol | - | 490 | 34,3 | 58,35 |
| Toluol | - | 490 | 33,9 | 58,35 |
| CS ₂ | - | 504 | 32,8 | 56,73 |
| n-Hexan | - | - | 31,0 | - |

(-)-unlöslich

Tabelle 2.3-2: Absorptionsmaxima von **33** und **34** in verschiedenen Lösungsmitteln, die $E_T(30)$ -Werte der Lösungsmittel und E_T -Werte für **34**.

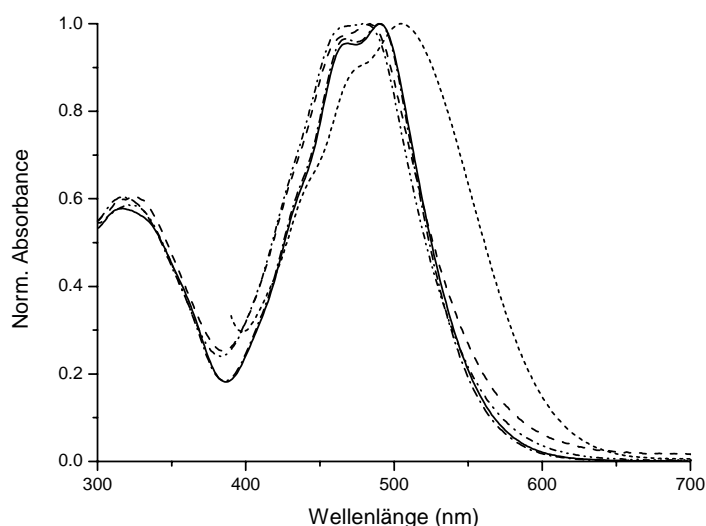


Abb. 2.3-6: Normierte Absorptionsspektren von **34** in Benzol (-), Toluol (-.-), CS₂ (...), Diethylether (---) und THF (-.-.).

Solvatochrome Verbindungen können auch zur Bestimmung von Lösungsmittelpolaritäten herangezogen werden. Im Falle negativer Solvatochromie ist das Dipolmoment μ_g im Grundzustand größer als im angeregten Zustand μ_e ($\mu_g > \mu_e$). Besser ausgedrückt, die Solvatochromie hängt davon ab, ob die Zwitterionstruktur im Grund- oder angeregten Zustand wichtiger ist.^[45-47]

Aus dem Absorptionsmaximum des Farbstoffs in einem bestimmten Lösungsmittel lässt sich der so genannte E_T -Wert nach Gleichung 2-1 bestimmen.^[48]

Gleichung 2-1: $E_T(\text{kcal.mol}^{-1}) = h\nu N_A = 2,859.10^3 \nu(\text{cm}^{-1}),$

h ist die Planck Konstante, c ist die Lichtgeschwindigkeit, ν ist die Wellenlänge der CT-Bande und N_A ist die Avogadro Konstante. Der E_T -Wert zeigt, wie groß die Übergangsenergie sein muss, um ein Mol des Farbstoffs, im bestimmten Lösungsmittel, vom Grund- in den angeregten Zustand zu bringen.

Durch empirische Studien wurde eine Standardskala $E_T(30)$ für die meisten organischen Lösungsmittel bestimmt. Die Angabe der $E_T(30)$ -Werte auf der x-Achse und die E_T -Werte des gemessenen Farbstoffs auf der y-Achse sollte im idealen Fall einen linearen Verlauf haben. Die Berechnung der Abhängigkeit für die Verbindung **34** zeigt, dass der Verlauf in mittel- und unpolaren Lösungsmitteln linear ist (*Abbildung 2.3-7*), dagegen in polaren Lösungsmitteln ist diese Bedingung nicht erfüllt. (*Tabelle 2.3-2*)

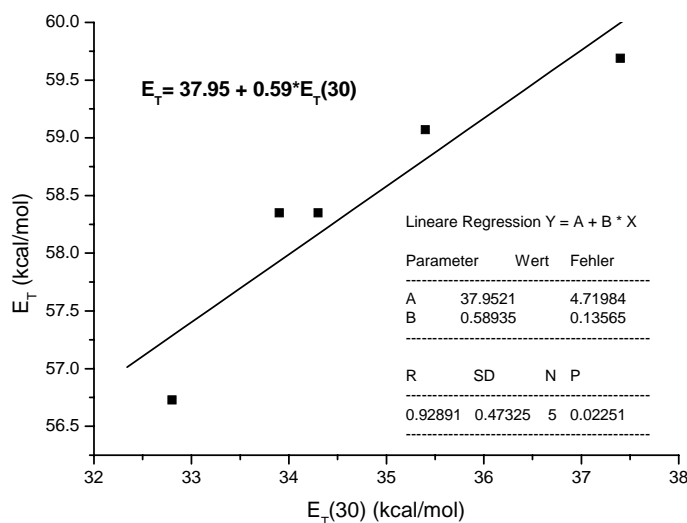


Abb. 2.3-7: Korrelation zwischen $E_T(30)$ und E_T von **34** für mittel- und unpolare Lösungsmittel, inset: Daten der linearen Regresion.

Aus der Parametern der Gerade lässt sich der E_T -Wert für fehlende Lösungsmittel berechnen und damit das Absorptionsmaximum des Farbstoffes in diesem Lösungsmittel. Die Unregelmäßigkeiten in der Absorption von **33** in allen gemessenen und von **34** in polaren Lösungsmitteln lassen sich durch die Unlöslichkeit und durch spezifische Solvenseffekte, wie Aggregation mittels Wasserstoffbrücken ermitteln.

2.4 Fluoreszenzspektroskopie

2.4.1 Fluoreszenzeigenschaften der Konjugatenbausteine

Die Fluoreszenzspektroskopie gibt Hinweise auf Eigenschaften von Molekülen im angeregten Zustand. Durch Bestimmung von Fluoreszenzintensität, -quantenausbeuten, -lebensdauer und -kinetik lassen sich Art und Effizienz von photophysikalischen und photochemischen Prozessen feststellen. Die Fluoreszenzspektroskopie eröffnet weiter die Möglichkeit Wechselwirkungen der unterschiedlichen Substrukturen einer chemischen Verbindung nach photonischer Anregung zu studieren. Um solche Aussagen machen zu können, müssen zuerst die Grundkörper Flavin (Isoalloxazin), Pyren, Phenothiazin und Deazaflavin auf deren Emissionsverhalten untersucht werden.

Flavin

Flavine zeigen eine leuchtend gelbe Fluoreszenz bei 500nm mit einer Schulter bei 520nm mit Quantenausbeuten zwischen 0,26 und 0,47, abhängig vom Lösungsmittel.^[49]

Die Quantenausbeuten in unpolaren Lösungsmitteln sind höher als in polaren. Es wurde vorgeschlagen, dass Wasserstoffbrückenbindungen sowohl die Effizienz der Fluoreszenz, als auch die Geschwindigkeitskonstante von Intersystem-crossing beeinflussen.^[50]

Die Quantenausbeute ist zwischen 260nm und 500nm unabhängig von der Anregungswellenlänge. Dies spricht dafür, dass höher angeregte Zustände durch interne Konversion extrem schnell in den S_1 -Zustand übergehen.^[51]

Flavine in der Dihydrochinonform sind nur bei tiefen Temperaturen im glasartigen Zustand mit einem Emissionsmaximum bei ungefähr 475nm fluoreszent.^[52] Die Quantenausbeuten sind gewöhnlich sehr niedrig.^[53]

Pyren

Der detektierte S_1 - S_0 -Übergang ist schwingungsaufgespalten (376, 392 und 418nm) und zeigt die für Pyren üblichen Stokes-Verschiebungen. In höheren Konzentrationen entsteht eine weitere Bande bei 475nm, die einem Excimer zugeordnet werden kann.^[54]

Als Excimere werden Komplexe zwischen einem im Grundzustand befindlichen und einem angeregten Molekül gleicher Sorte bezeichnet.^[55, 56] Die Fluoreszenzquantenausbeute ist mit 0,65 in Cyklohexan relativ hoch und die Fluoreszenzlebensdauer beträgt 300ns in Acetonitril.^[55, 57, 58] Innerhalb der Diade **13** und Triade **17** hat Pyren die Rolle einer Antenne (Lichtsammler). Da sich das Fluoreszenzspektrum von Pyren mit dem

Absorptionsspektrum der Flavine überdeckt, wird ein Energietransferprozess von Pyren zu Flavin erwartet.

Phenothiazin

Unsubstituierte und an der 10-Position substituierte Phenothiazine weisen eine sehr schwache Fluoreszenz auf. Deren Maximum ist lösungsmittelabhängig und liegt im Bereich von 450 bis 475nm, mit Quantenausbeuten zwischen 0,001 und 0,02.^[59] Die Fluoreszenz von in 3-Position substituierten Phenothiazinen ist dagegen sehr stark und die Quantenausbeute beträgt 0,36 in Methylenchlorid.^[44]

Deazaflavin

Die Fluoreszenz der Deazaflavine ist durch ein Maximum bei ca. 450nm geprägt. Die Quantenausbeute ist von den Substituenten in der 8-Position und dem Lösungsmittel abhängig und kann von 0 bis 0,45 variieren.^[60] Deazaflavine zeigen bei tiefen Temperaturen (77K) Phosphoreszenz. Das Maximum liegt bei ca. 490nm und die Quantenausbeute bei 0,38.^[61]

2.4.2 Diaden 12 und 13 und Triade 17

Die Fluoreszenzspektren von 1-Methylpyren ($3,2 \cdot 10^{-6} \text{M}$) und 1-Acetylpyren ($2,5 \cdot 10^{-6} \text{M}$) zeigen eine starke Emission bei ca. 376nm, die dem 0-0 Übergang angehört. Bei höheren Konzentrationen über 10^{-5}M wurde eine neue unaufgelöste Bande mit dem Maximum bei 475nm beobachtet, die der Emission von Pyrendimer (Excimer) zugeordnet werden kann. Das Isoalloxazinderivat **6** zeigt Fluoreszenz bei 500nm mit einer Schulter bei 530nm. In *Tabelle 2.4-1* sind die Fluoreszenzmaxima der untersuchten Substanzen zusammengefasst.

| Verbindung | $\lambda_{\text{max}}^{\text{fl}} \text{ (nm)}$ ($\lambda_{\text{ex}} = 320 \text{nm}$) | $\lambda_{\text{max}}^{\text{fl}} \text{ (nm)}$ ($\lambda_{\text{ex}} = 420 \text{nm}$) |
|-------------------|--|--|
| 1-Methylpyren | 376 | |
| 1-Acetylpyren | 376 | |
| 6 | | 530 |
| 8 | 445 | |
| 11 | 460 | |
| 12 | 483 | 515 |
| 13 | 373 | 530 |
| 17 | 376 | 500 |

Tabelle 2.4-1: Fluoreszenzmaxima der Konjugate und Bausteine in Methylenchlorid nach der Anregung bei 320 und 420nm.

Die Ergebnisse der zeitaufgelösten Fluoreszenzmessungen sind in *Tabelle 2.4-2* aufgelistet.

| <i>Verbindung</i> | λ_{ex} (nm) | ϕ_f | <i>Referenz</i> | τ_f |
|-------------------|---------------------|-------------------------|-----------------|--|
| 1-Methylpyren | 309 | 0,586 | PY: 0,65 in CH | 64,5ns |
| 1-Acetylpyren | 313 | 0,41 | PY: 0,65 in CH | τ_1 : 90,5ns τ_2 : 9,4ns |
| 6 | 321 | 0,23 | QS: 0,55 | 4ns |
| | 428 | 0,223 0,154* | | 4,32ns 3,29ns |
| 8 | 326 | 0,016 | QS: 0,55 | 1,7ns |
| 11 | 308 | 0,26 | QS: 0,55 | 5,86ns |
| 12 | 463 | 0,00049 (480-650 nm) | RF: 0,26 | 6ns |
| | 323 | 0,004 (450-600 nm) | QS: 0,55 | |
| | 428 | 0,000568 0,000354* | | |
| | 365 | 0,00337 0,00274* | | 4,47ns |
| 13 | 324 | 0,0017 (468-625 nm) | QS: 0,55 | τ_1 : 90ps τ_2 : 7ns τ_3 : \approx 60ns |
| | 385 | 0,0056 (468-625 nm) | QS: 0,55 | |
| | 311 | 0,016 (335-460 nm) | PY: 0,65 in CH | |
| | 428 | 0,002711 | | 0,578ns |
| 17 | 318,5 | 0,0016 (356-480 nm) | PY: 0,65 in CH | τ_1 : 90ps τ_2 : 2,5ns τ_3 : \approx 60ns |
| | 435 | 0,00013 (450-650 nm) | ISO: 0,19 | |
| | 352,5 | 0,00025 (425-650 nm) | QS: 0,55 | |
| | 428 | 0,0003377 0,0004795* | | |
| | 365 | 0,002691 | | 4,62ns |

*- in Acetonitril

Tabelle 2.4-2: Fluoreszenzquantenausbeute und -lebensdauer der Konjugate und Bausteine in Methylenchlorid. (Referenzen – RF: Riboflavin, QS: Chinin Sulfat, PY: Pyren, ISO: 8-Methoxy-6, CH: Cyclohexan)

Die selektive Anregung des Flavinbausteins innerhalb der Diade **13** bei 428nm zeigt, dass die Pyreneinheit keinen Einfluss auf die Lage des Fluoreszenzmaximums des Flavins hat, die Quantenausbeute mit 0,0027 jedoch wesentlich niedriger liegt als bei anderen Isoalloxazinen (0,223 für **6**). Nach Anregung bei $\lambda_{\text{ex}} = 328\text{nm}$ überwiegt größtenteils die Emission des Pyrens, mit ebenfalls niedriger Quantenausbeute in Höhe von 0,0017. Offensichtlich existiert ein effektiver Quenchmechanismus und gegebenenfalls ein photoinduzierter Elektronentransfer. Ob Energietransfer von Pyren zu Isoalloxazin auftritt, kann aus den experimentellen Daten nicht beurteilt werden (*Abbildung 2.4-1*)

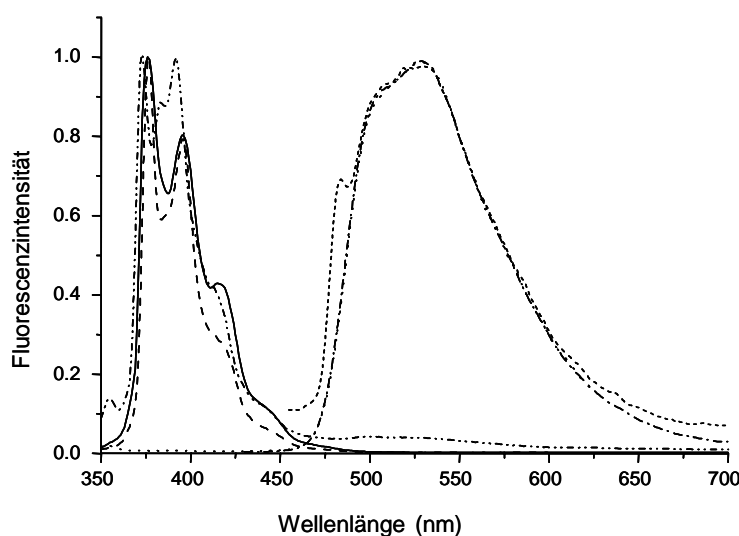


Abb. 2.4-1: Normierte Fluoreszenzspektren von 1-Methylpyren(voll), 1-Acetylpyren(- - -), **6**(...) und **13**(-.-) $\lambda_{\text{ex}} = 320\text{nm}$ und **6**(-.-) und **13**(---) $\lambda_{\text{ex}} = 420\text{nm}$ in Methylenchlorid.

Die Anregung der Diade **12** bei 320nm führt bevorzugt zur Anregung des Phenylphenothiazinteils. Im Gegensatz zur Quantenausbeute von Modellverbindung **11** mit 0,26 ist die Intensität von **12** nur gering ($\Phi_f = 0,004$). (*Abbildung 2.4-2*) Die im nachfolgenden Kapitel beschriebenen zeitaufgelösten Untersuchungen deuten zudem darauf hin, dass es sich bei der emittierenden Spezies um ein irreversibel gebildetes Photoprodukt handelt.

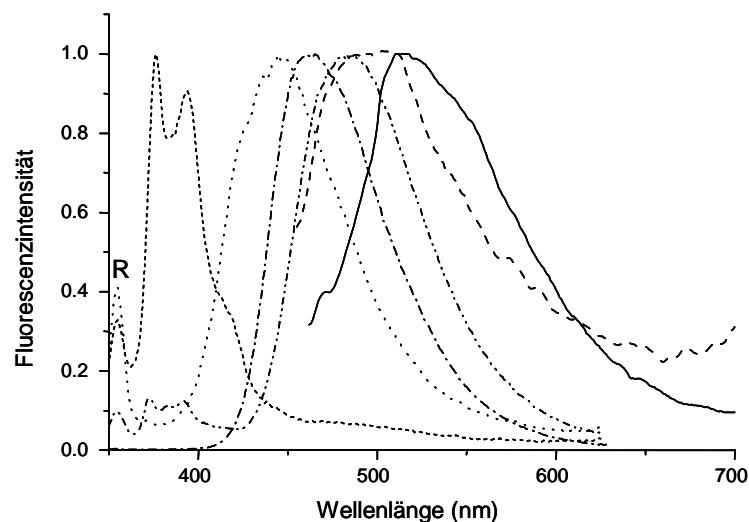


Abb. 2.4-2: Normierte Fluoreszenzspektren von **8**(---), **11**(-.-), **12**(-.-.-) und **17**(—) $\lambda_{\text{ex}} = 320\text{nm}$ und **12**(voll) $\lambda_{\text{ex}} = 440\text{nm}$ und **17**(---) $\lambda_{\text{ex}} = 420\text{nm}$ in Methylenchlorid.

Eine korrekte Interpretation dieser Emission kann über die Abhängigkeit von Anregungswellenlänge und Lösungsmittel erfolgen. Bei Anregung im Bereich der Absorption des Phenothiazinchromophors, nähert sich die Emission dem Spektrum von **11** an. Nach Anregung im längerwelligen Bereich, wo bloß die Isoalloxazineinheit angeregt werden kann, zeigt sich die charakteristische Fluoreszenz vom phenyl-substituierten Isoalloxazin. Für andere Anregungswellenlängen ergibt sich das Fluoreszenzspektrum als Superposition beider Fluoreszenzspektren in unterschiedlichen Verhältnissen. (*Abbildung 2.4-3*). Letztendlich zeigt die Emission von **12** eine kleine bathochrome Verschiebung mit steigender Polarität der Lösungsmittel.

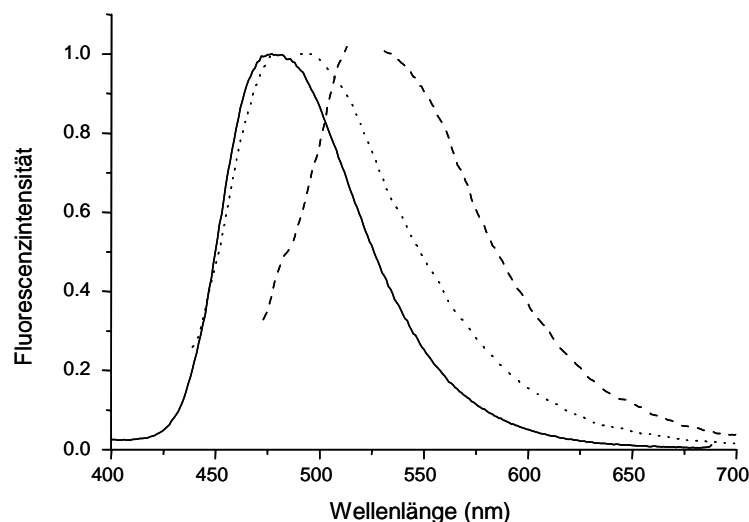


Abb. 2.4-3: Normierte Fluoreszenzspektren von **12** in Methylenchlorid mit $\lambda_{\text{ex}} = 320\text{nm}$ (voll); $\lambda_{\text{ex}} = 420\text{nm}$ (...) und $\lambda_{\text{ex}} = 450\text{nm}$ (---).

Der Extinktionskoeffizient der Pyrenabsorption in **17** bei 320nm ist genauso wie bei **12**. Das heißt, dass beide Bestandteile des Multichromophorsystems **17** (Phenothiazin-Flavinteil und Pyren) mit der gleichen Wahrscheinlichkeit angeregt werden. Das Fluoreszenzspektrum von **17** zeigt offensichtlich eine stark gequenchte Pyrenemission und eine schwache Emission im Bereich von 450 bis 600nm. (*Abbildung 2.4-2*) Es lässt sich vermuten, dass die längerwellige Emission, ähnlich wie bei **12**, auf ein Photoprodukt zurückzuführen ist. Die Löschung der Pyrenemission geschieht höchstwahrscheinlich aufgrund des Energietransfers zum phenyl-substituierten Isoalloxazin, obwohl ein Elektronentransferprozess auch nicht ausgeschlossen werden kann.

Nach Anregung der längerwelligen Bande von **12** ergibt sich eine sehr kleine Fluoreszenzquantenausbeute von 0,00049, was ebenfalls auf eine effiziente Fluoreszenzlöschung des angeregten Zustandes des Isoalloxazinteils hindeutet. Durch Anregung im kurzwelligen Bereich steigt die Quantenausbeute im längerwelligen Bereich des Spektrums auf das 10fache. Da aus dem Fluoreszenzspektrum vermutet werden kann, dass es sich um die Superposition der Spektren von Phenylphenothiazin und Isoalloxazin handelt, ist die Auswertung nicht einfach.

Zur Vollständigkeit sollte erwähnt werden, dass die Fluoreszenzlöschung von Pyren scheinbar bei **17** effektiver ist als bei **13**. Einerseits lässt sich dies durch zusätzliche Möglichkeiten zur Fluoreszenzlöschung erklären, wie beispielsweise der Energietransfer zur 3-Phenylphenothiazineinheit oder der Elektronentransfer zwischen Pyren und

Flavin bzw. dem Phenothiazin-Flavinteil. Andererseits kann man sich die Frage stellen, ob die beobachtete schwache Emission vom untersuchten System stammt, oder von Verunreinigungen oder von Photoprodukten. Diese Schlussfolgerung ergibt sich durch den Vergleich der Fluoreszenzquantenausbeuten von **17** und **12** nach der Anregung im längerwelligen Bereich oder durch die Schwankung der Quantenausbeute mit der Polarität des Lösungsmittels.

Zeitaufgelöste Fluoreszenzmessungen

In zeitaufgelösten Fluoreszenzmessungen wurde die Lebensdauer der angeregten Zustände der Konjugatenbausteine und der Konjugate bestimmt. Im Falle der Pyrenfluoreszenz ist bekannt, dass die Lebensdauer in unpolaren Lösungsmitteln 650ns und in polaren 190ns beträgt. Die Substitution an der 1-Position führt zur Abnahme der Lebensdauer. In Methylenchlorid beträgt die Fluoreszenzlebensdauer von 1-Methylpyren 64,5ns und von 1-Acetylpyren 90ns. Die Lebensdauer der Phenothiazinderivate **8** und **11** beträgt 1,7 bzw. 5,86ns. Das Flavinderivat **6** weist eine Fluoreszenzlebensdauer von 4ns auf. Die Fluoreszenzlebensdauer und Quantenausbeute der Konjugate unterscheiden sich stark von den Daten der Konjugatenbausteine. (*Tabelle 2.4-2*) Trotz der stark gequenchten Emission von **12** ($\lambda_{\text{ex}} = 365\text{nm}$) kann die Lebensdauer durch einen monoexponentiell Fit von 4,47ns bestimmt werden. Die vergleichsweise hohe Lebensdauer bei geringer Quantenausbeute macht es wahrscheinlich, dass die Emission nicht von **12** stammt, sondern von einem Spaltprodukt, welches während der Bestrahlung gebildet wird. Mittels HPLC-Messungen konnte diese Verbindung nachgewiesen werden. Ein ähnliches Verhalten zeigt sich bei der Untersuchung von **17** ($\lambda_{\text{ex}} = 365\text{nm}$, $\tau_f = 4,62\text{ns}$). Da die Diade **13** kein analoges Verhalten aufweist, sollte die Spaltung von **12** und **17** mit dem Phenothiazinbaustein zusammenhängen. Die spektralen Eigenschaften von **12,13** und **17** nach der Anregung bei 428nm zeigen im langwelligen Bereich eine schwache Flavinemission.

2.4.3 Diaden S-29 und 33, 34

Die Diade **S-29** soll die in der Natur verlaufenden Energietransferprozesse von Deazaflavin zu Flavin (Cryptochrom, Photolyase) nachahmen.^[62, 63] Deazaflavine zeigen gewöhnlich eine intensive Fluoreszenz bei 435nm. Die gute Überlappung mit der Flavinabsorption lässt erwarten, dass der Energietransfer bei Deazaflavin-Flavin-Konjugaten eine wichtige Rolle spielen werden.^[17] Entgegen den Erwartungen weist die Diade **S-29** nur eine sehr geringe Fluoreszenz auf, unabhängig davon ob die Deazaflavineinheit oder die Flavineinheit angeregt wird. Hinweise auf einen effizienten Energietransfer von Deazaflavin zu Flavin ergeben sich nicht. (Abbildung 2.4-4) Der Grund für die niedrigen Quantenausbeuten könnte auf strahlungslosen Prozessen beruhen, die möglicherweise mit der Flexibilität des Moleküls zusammenhängt.

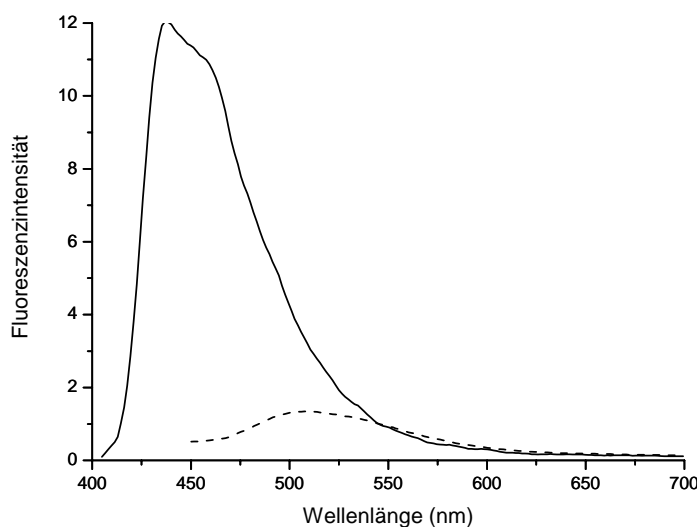


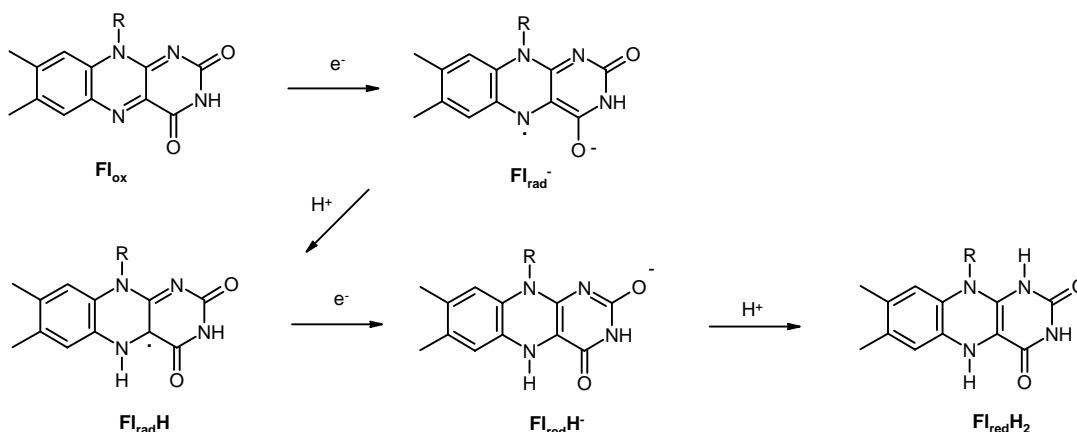
Abb. 2.4-4: Fluoreszenzspektren von **S-29** in Methylenchlorid mit $\lambda_{\text{ex}} = 390\text{nm}$ (voll) und $\lambda_{\text{ex}} = 440\text{nm}$ (---).

Die Diaden **33** und **34** sind nicht fluoreszent. Aufgrund der starken Kopplung der beiden Untereinheiten Phenothiazin und Flavin ist es fraglich, ob eine Aufteilung der Diaden in seine beiden Subeinheiten gerechtfertigt ist. Verneint man dies, so wäre es auch nicht überraschend, wenn sich die Eigenschaften von **33** und **34** von seinen Grundeinheiten deutlich unterscheiden, wodurch die fehlende Fluoreszenz begründet werden könnte. Auch ein photoinduzierter Elektronentransfer von Phenothiazin zu Flavin kann letztendlich nicht ausgeschlossen werden.

2.5 Elektrochemie und Spektroelektrochemie

Die vorliegenden Farbstoffe besitzen mit Pyren, Phenothiazin, Flavin und Deazaflavin elektrochemisch aktive Substrukturen. Die Charakterisierung der elektrochemischen Eigenschaften der Verbindungen erfolgt mittels Cyclovoltammetrie^[64] und Spektroelektrochemie. Diese Messmethoden erlauben Aussagen über Lage, Reversibilität und Stabilität eines elektrochemischen Prozesses und über das spektroskopische Verhalten der entstehenden Radikationen. Da der Hauptteil dieser Arbeit auf Flavin beruht, wird auf seine elektrochemischen Eigenschaften näher eingegangen.

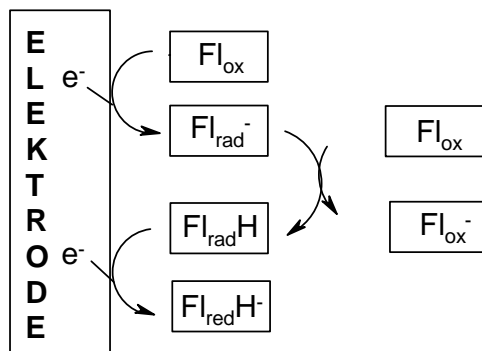
Flavoproteine, die Flavincofaktore FAD oder FMN beinhalten, zeigen in Abhängigkeit von der Umgebung ein stark unterschiedliches Redoxverhalten. Die oxidierte Form des Flavins (**Fl_{ox}**) kann in einem Zweielektronenprozess direkt zum Flavinhydroquinon (**Fl_{red}H₂**) reduziert werden. Die Reduktion kann allerdings auch schrittweise durch zwei Einelektronenprozesse stattfinden, wobei nach dem ersten Schritt Flavinsemiquinonradikal, entweder in der anionischen (**Fl_{rad}⁻**) oder neutralen (**Fl_{rad}H**) Form gebildet wird.^[65, 66] (Schema 2.5-1)



Schema 2.5-1: Reduktion von Isoalloxazin.

Deswegen sind Flavoenzyme dazu geeignet als Mediatoren zwischen Einelektronen- und Zweielektronenprozessen zu fungieren. Die Reduktionsprozesse, die in aprotischen organischen Lösungsmitteln stattfinden, werden schon seit über 30 Jahren diskutiert.^[67, 68] *Rotello* hat festgestellt, dass intermolekularer Protontransfer vom aziden Imidproton des oxidierten Flavins (**Fl_{ox}**) zum Radikal **Fl_{rad}⁻** ein wichtiger Faktor während der Reduktion der Flavine ist.^[69] **Fl_{ox}** wird an der Elektrode zum Radikalanion **Fl_{rad}⁻** reduziert. Ein Teil des Radikalanions wird durch **Fl_{ox}** aus der Lösung protoniert, was zum neutralen Radikal **Fl_{rad}H** führt. Da **Fl_{rad}H** ein weniger negatives Reduktionspotential als

Fl_{ox} hat, wird es sofort zum $\text{Fl}_{\text{red}}\text{H}^\cdot$ reduziert. Dieser ECE-Prozess (elektrochemisch-chemisch-elektrochemisch) kann nicht aufgelöst werden und ergibt bloß eine Reduktionwelle im Cyclovoltammogramm. Die Rückoxidation von $\text{Fl}_{\text{rad}}^\cdot$ im Reoxidationsprozess erfolgt bei negativerem Potential als bei $\text{Fl}_{\text{red}}\text{H}^\cdot$, weswegen man zwei Rückoxidationswellen erhält. (Schema 2.5-2)



Schema 2.5-2: ECE-Mechanismus während der Reduktion der Isoalloxazine mit N(3)H.

Im Vergleich zu Flavinen mit unsubstituierter N(3)-Position zeigen N(3)-alkylsubstituierte Flavine in aprotischen Lösungsmitteln eine reversible Einelektronreduktion, weil keine aziden Protonen vorhanden sind. Hinsichtlich der Komplexität der Flavinreduktion, wurden ausschließlich N(3)-alkylsubstituierte Flavine untersucht.

2.5.1 Elektrochemische Untersuchungen der Diaden 12 und 13 und der Triade 17

Die Daten der elektrochemischen Untersuchungen der Pyren-Phenothiazin-Flavin-Diaden und -Triade, sowie der Subchromophore sind in *Tabelle 2.5-1* zusammengefasst. Die Oxidationspotentiale der Phenothiazinsubchromophore **8** liegen im Bereich von 250 bis 330mV (vs. Fc/Fc^+) und hängen vom Substituenten an der C-3- oder N-10-Position ab.^[44, 70-72] Das Flavinsubchromophor **6** zeigt eine reversible Einelektronreduktion unter der Bildung des Radikalanions mit dem Halbstufenpotential bei -1070mV in Acetonitril. Das Halbstufenpotential der Reduktion von Pyren zum Pyrenradikalanion beträgt -2540mV.^[73] Die für Pyren bekannte zweite Reduktionsstufe liegt ausserhalb des Lösungsmittelfensters.

Das Cyclovoltammogramm der Phenothiazin-Flavin-Diade **12** zeigt zwei reversible Wellen, die die Bildung vom Radikalkation (Oxidation von Phenothiazin) und vom Radikalanion (Reduktion von Flavin) darstellen. Deren Halbstufenpotentiale liegen bei

$E_{1/2} = 300\text{mV}$ bzw. $E_{1/2} = -1130\text{mV}$ in Acetonitril ($E_{1/2} = 290\text{mV}$ bzw. $E_{1/2} = -1180\text{mV}$ in Methylenchlorid). (Abbildung 2.5-1)

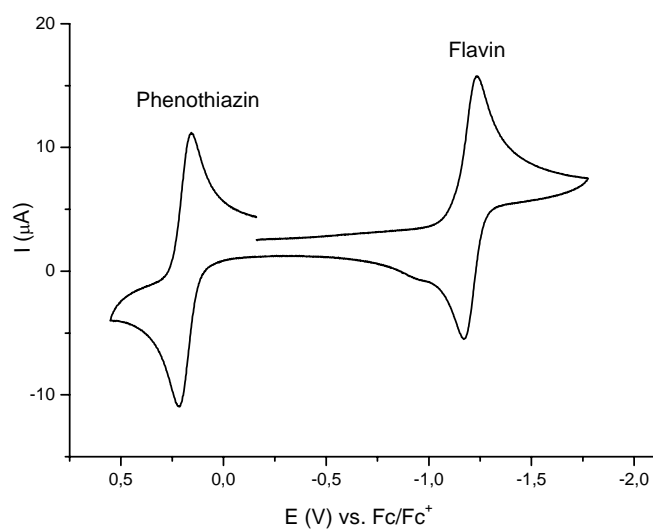


Abb. 2.5-1: Cyclovoltammogramm von **12**, Vorschubgeschwindigkeit: 250mV/s, 0,1M TBAHFP in Methylenchlorid.

Die elektrochemischen Untersuchungen der Pyren-Flavin-Diade **13** und Pyren-Phenothiazin-Flavin-Triade **17** liefern eine Reduktionswelle mit dem Halbstufenpotential $E_{1/2} = -1080\text{mV}$ bzw. -1070mV in Acetonitril. Sie ist der Einelektronreduktion von Flavin unter der Bildung vom Flavinradikalanion Fl_{rad}^- zuzuordnen. (Abbildung 2.5-2 und 2.5-3)

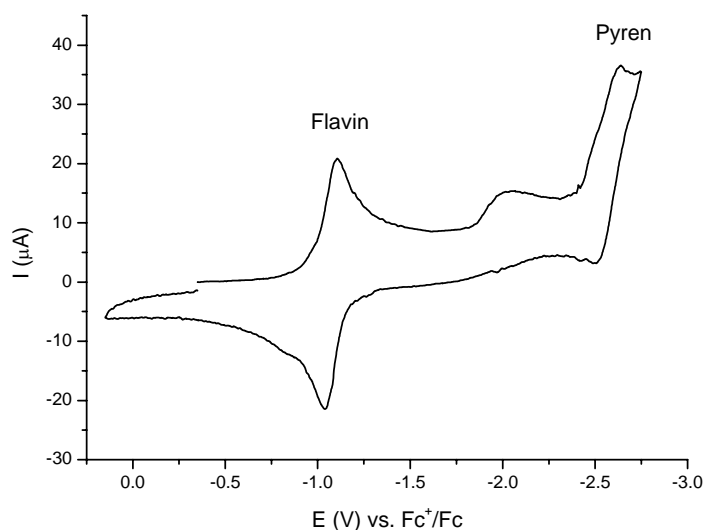


Abb. 2.5-2: Cyclovoltammogramm von **13**, Vorschubgeschwindigkeit: 250mV/s, 0,1M TBAP in Acetonitril.

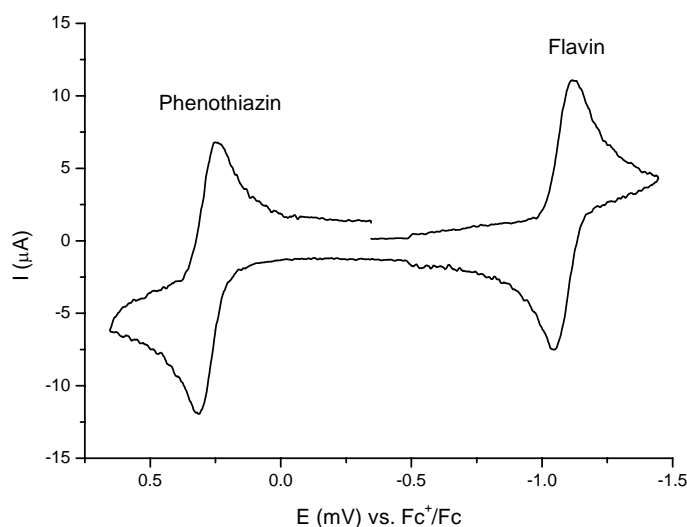


Abb. 2.5-3: Cyclovoltammogramm von **17**, Vorschubgeschwindigkeit: 250mV/s, 0,1M TBAHFP in Acetonitril.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die Redoxpotentiale der multichromophoren Systeme **12**, **13** und **17** etwa identisch mit den Redoxpotentialen der alleinstehenden Subchromophore (Pyren, Phenothiazin, Flavin) sind. Das heißt, dass keine oder nur eine sehr schwache elektrochemische Kopplung zwischen den Chromophoren im Grundzustand besteht und die Brücke keinen nennenswerten Einfluss auf die Lage des Redoxpotentials ausübt.

| <i>Verbindung</i> | <i>Lösungsmittel</i> | <i>Oxidation $E_{1/2}$ (V)</i> | <i>Reduktion $E_{1/2}$ (V)</i> |
|------------------------------|----------------------|---|---|
| Pyren | THF | 0,91 | -2,54 |
| N-10-Phenyl- phenothiazin | THF | 0,33 | |
| 6 | ACN | | -1,07 |
| 8 | THF | 0,32 | |
| 11 | MC | 0,25 | |
| | ACN | 0,27 | |
| 12 | MC | 0,29 | -1,18 |
| | ACN | 0,30 | -1,13 |
| 13 | DMSO | | -1,09 |
| | ACN ^a | | -1,08 |
| | | | -2,56 |
| 17 | DMSO | 0,28 | -1,07 |
| | | | -2,44 |
| | ACN | 0,29 | -1,07 |

a- 0,1M TBAP

Tabelle 2.5-1: Halbstufenpotentiale von **6**, **8**, **11**, **12**, **13**, **17** und von Pyren und N-Phenylphenothiazin ($c = 10^{-3}\text{M}$, 0,1M TBAHFP, $v = 250\text{mV/s}$) gegen Fc/Fc^+ als Referenz.

Spektroelektrochemie der Diaden 12, 13 und Triade 17

Die elektrochemische Oxidation der Verbindungen N-10-Phenylphenothiazin, **12** und **17** ergibt im Absorptionsspektrum die typische Phenothiazinradikalkationbande bei 580 und 780nm. (*Abbildung 2.5-4*)

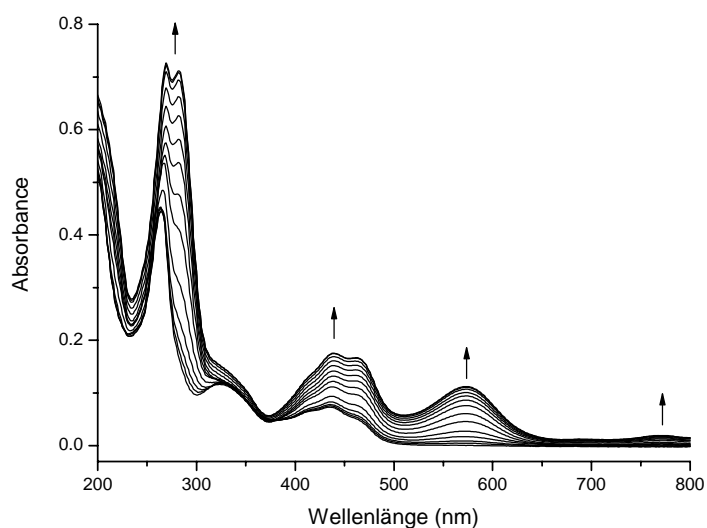


Abb. 2.5-4: Absorptionsspektren von **12** während der Oxidation in Acetonitril.

Die Reduktion von Flavin **6** in Methylenchlorid zeigt die Bildung einer neuen charakteristischen Absorptionsbande des Flavinradikalanions Fl_{rad}^- bei 390nm. (Abbildung 2.5-5)

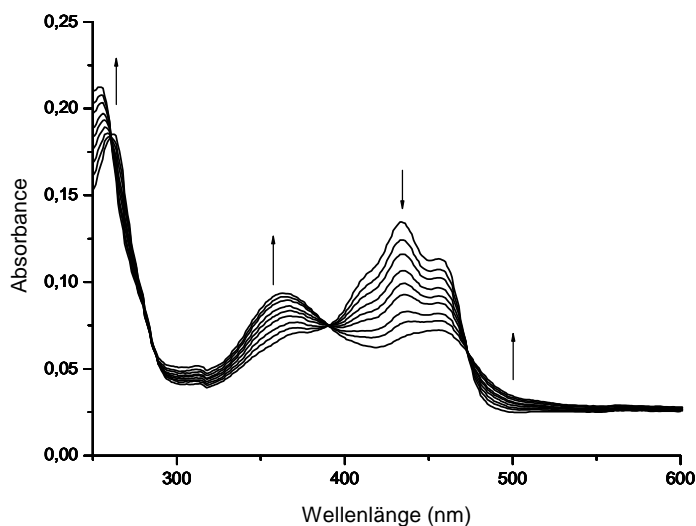


Abb. 2.5-5: Absorptionsspektren von **6** während der ersten Reduktion in Methylenchlorid, Bildung vom Flavinradikalanion.

Die Reduktion von **13** in Methylenchlorid führt nicht wie erwartet zum Flavinradikalanion (Fl_{rad}^-), sondern zum Flavindianion ($\text{Fl}_{\text{red}}\text{H}^-$). Auf die Ursache dieser Beobachtung im Absorptionsspektrum wird bei Verbindung **17** eingegangen. (Abbildung 2.5-6)

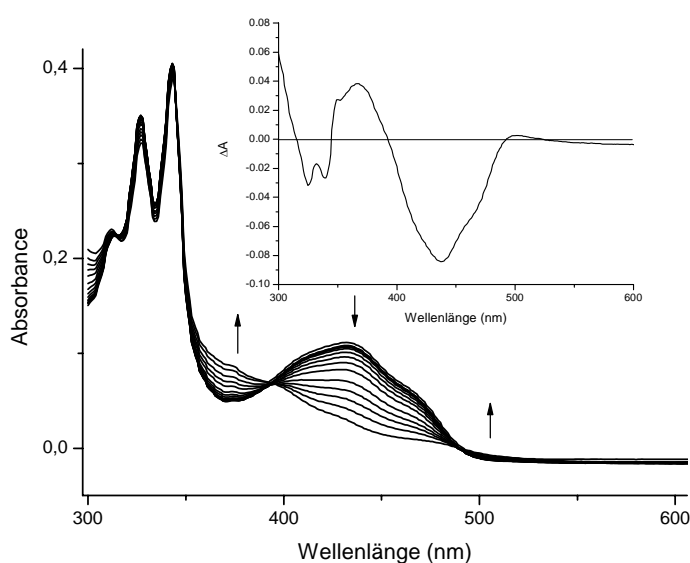


Abb. 2.5-6: Absorptionsspektren von **13** während der ersten Reduktion in Methylenchlorid, Bildung vom protonierten Flavindianion ($\text{Fl}_{\text{red}}\text{H}^-$), inset: Differenzspektrum.

Das Absorptionsmaximum des Pyrenradikalanions ist durch eine intensive Bande bei 500nm geprägt.^[74] Dieses Verhalten wird bei der Reduktion ($-2.45\text{ V vs. Fc/Fc}^+$) der Verbindungen **13** und **17** und von Pyren beobachtet. (Abbildung 2.5-7).

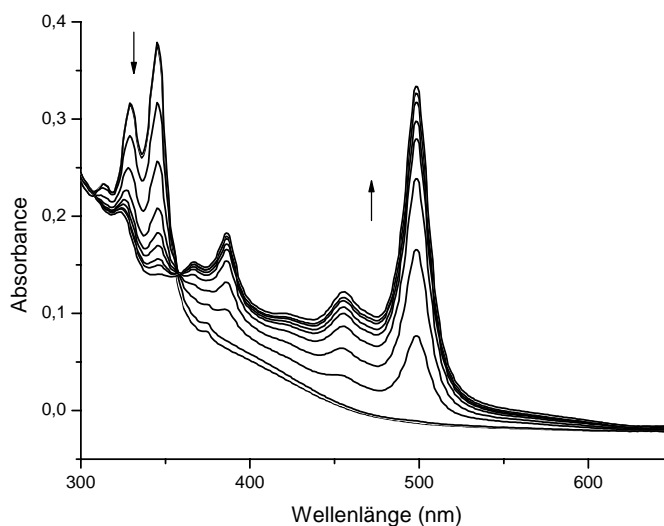


Abb. 2.5-7: Absorptionsspektren von **13** während der Reduktion in DMSO, Bildung von Pyrenradikalanion.

Das Absorptionsspektrum des Flavinbausteines in der Diade **12** ist lösungsmittelabhängig. In Acetonitril liefert die Reduktion das Absorptionsspektrum vom protonierten Flavindianion ($\text{Fl}_{\text{red}}\text{H}^-$), während in Methylenchlorid das typische Spektrum vom Flavinradikalanion (Fl_{rad}^-) entsteht. (Abbildung 2.5-8 und 2.5-9) Dieses unterschiedliche Verhalten, bezüglich der Bildung vom protonierten Flavindianion ($\text{Fl}_{\text{red}}\text{H}^-$), wird durch die unterschiedliche Polarität der Lösungsmittel verursacht.

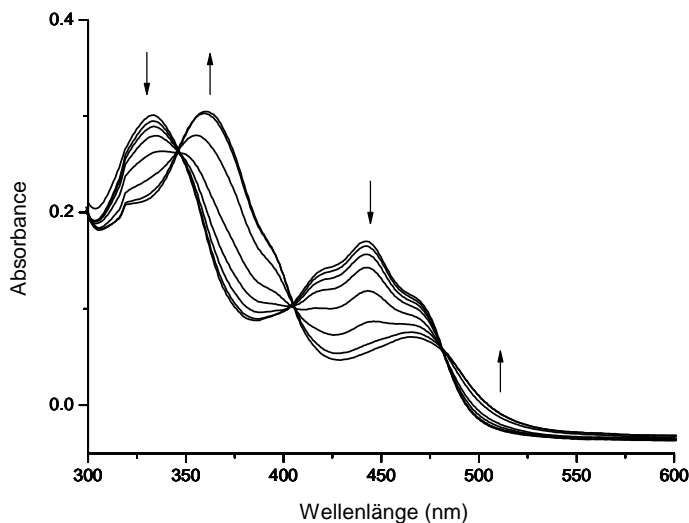


Abb. 2.5-8: Absorptionsspektren von **12** während der Reduktion in Methylenchlorid, Bildung vom Flavinradikalanion (Fl_{rad}^-).

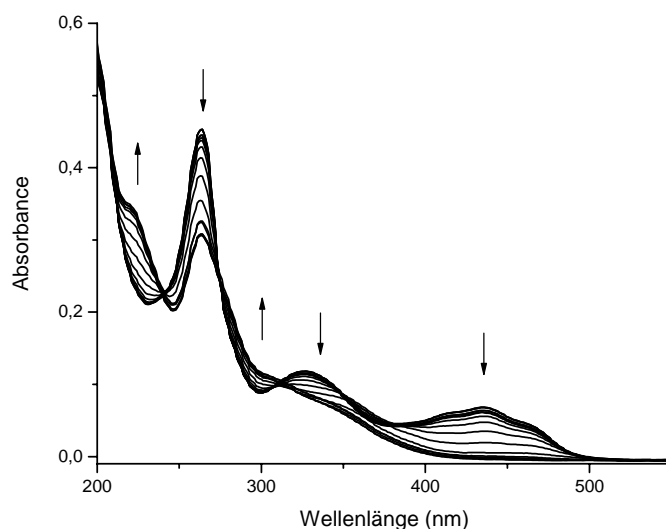
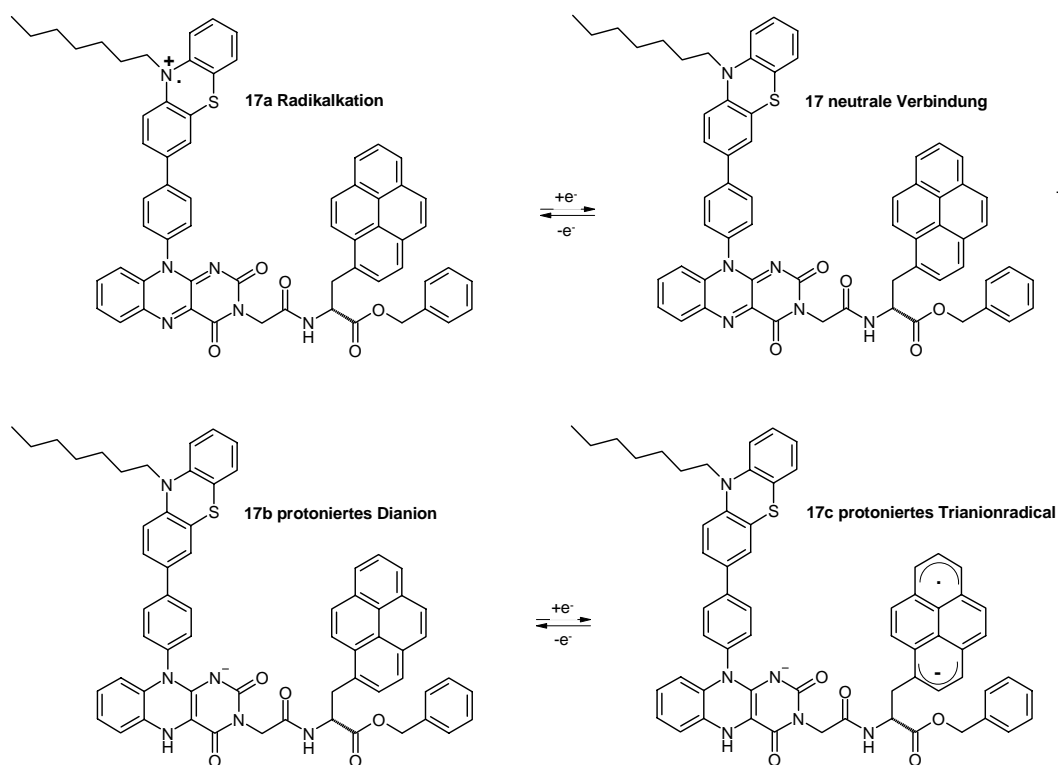


Abb. 2.5-9: Absorptionsspektren von **12** während der Reduktion in Acetonitril, Bildung vom protonierten Flavindianion ($\text{Fl}_{\text{red}}\text{H}^-$).

Die Untersuchung der Reduktion der Diade **13** und Triade **17** in DMSO zeigt die Bildung des protonierten Flavindianions $\text{Fl}_{\text{red}}\text{H}^-$. In diesem Fall ist aber die Protonierung durch das Proton der amidischen NH-Gruppe aufgrund ihres hohen pK_a -Wertes verursacht. *Schema 2.5-3* und *Abbildungen 2.5-10*, *2.5-11* und *2.5-12* schildern die elektrochemischen Prozesse, die innerhalb der Triade **17** in DMSO verlaufen.



Schema 2.5-3: Elektrochemische Prozesse von **17** in DMSO.

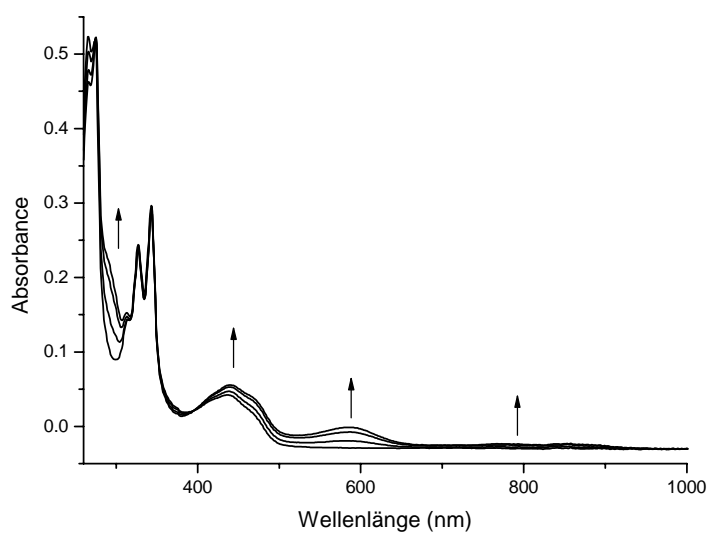


Abb. 2.5-10: Absorptionsspektren von **17** während der Reduktion in DMSO, Bildung vom Phenothiazinradikalkation **17a**.

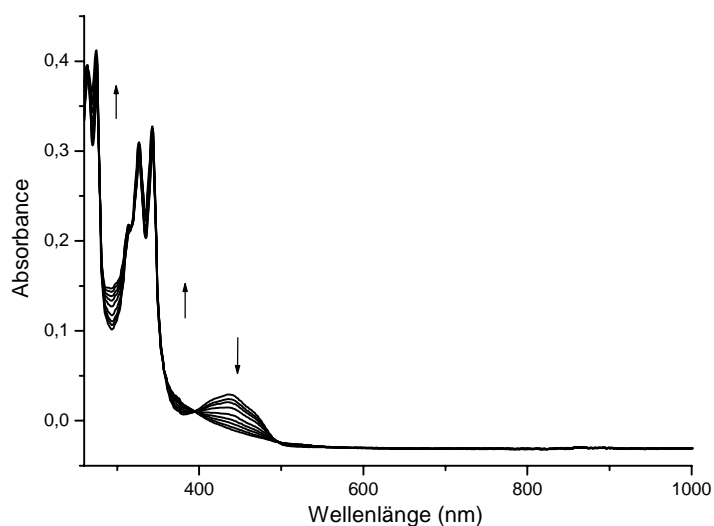


Abb. 2.5-11: Absorptionsspektren von **17** während der Reduktion in DMSO, Bildung vom protonierten Flavindianion ($\text{Fl}_{\text{red}}\text{H}^-$) **17b**.

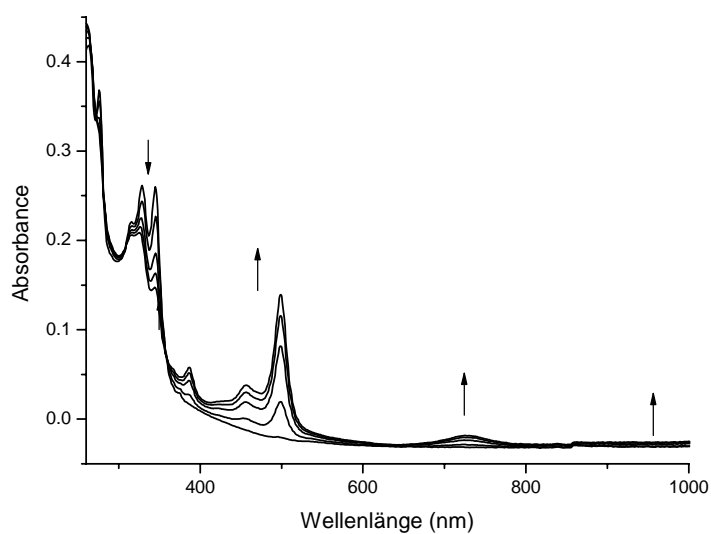


Abb. 2.5-12: Absorptionsspektren von **17** während der Reduktion in DMSO, Bildung vom Pyrenradikalanion **17c**.

Die Daten der generierten Spezies sind in *Tabelle 2.5-2* zusammengefasst.

| <i>Verbindung (Solvens)</i> | <i>generierte Spezies</i> | <i>Absorptionsmaxima λ_{max} (nm)</i> |
|--------------------------------------|--|--|
| Pyren (ACN) | Radikalanion | 490, 575 (sh), 735, 930, 1030 |
| N-10-Phenyl phenothiazin (THF) | Radikalkation | 515, 755, 866 |
| 6 (MC) | Radikalanion | 254, 352, 456 |
| 12 (MC) | Radikalkation Radikalanion | 444, 470, 580, 780 360, 466 |
| 12 (ACN) | Radikalkation protoniertes Dianion | 439, 463, 573, 771 292 (\uparrow), 355 (sh) |
| 13 (DMSO) | erste Reduktion Pyrenanion | 374 (\uparrow), 466 (sh) 325, 386, 455(sh), 498, 728, 1016 |
| 17 (DMSO) | Radikalkation protoniertes Dianion Pyrenradikalanion | 290 (sh), 441, 472, (sh), 585, 848 291 (sh), 377 (sh) 500, 731, 1002 |

Tabelle 2.5-2: Absorptionsmaxima der untersuchten Substanzen nach der Oxidation bzw. Reduktion.

Die Analyse der Spektren zeigt, dass die untersuchten Verbindungen **12**, **13** und **17** im Grundzustand offenbar keine Kopplung zwischen den Substrukturen aufweisen. Dies wird dadurch belegt, dass alle Absorptionsspektren aus der Summe der Spektren der jeweiligen Substrukturen zusammengesetzt werden können und keine Verschiebung der Absorptionsmaxima erfolgt, bzw. keine zusätzlichen Absorptionsbanden wie etwa Charge-Transfer-Banden zu beobachten sind. Dies wird durch die spektroelektrochemischen und elektrochemischen Untersuchungen bestätigt. Die Redoxprozesse innerhalb der Diaden **12** und **13** und der Triade **17** sind an den Pyren-, Phenothiazin- und Flavinsubchromophoren lokalisiert und es ist nur eine sehr leichte oder keine Abweichung der Halbstufenpotentiale im Vergleich zu den Modellverbindungen festzustellen.

2.5.2 Elektrochemische Untersuchungen der Diaden S-29 und 34

Die Untersuchung der Binaphtylverbindung **S-29** soll Aufschluss über die Wechselwirkung zwischen den Subchromophoren geben. Die Modellverbindungen dieses Chromophors, dem Flavinbaustein **5** und Deazaflavinbaustein **24** wurden untersucht. Verbindung **5** zeigt ein klassisches Redoxverhalten. Im Falle der Reduktion des Deazaflavinbausteins ist ein irreversibler Prozess im Cyclovoltammogramm erkennbar. (*Abbildung 2.5-13*) Der Grund für die Irreversibilität ist die Dimerisierung des Deazaflavins an der C(5)-Position.^[75] Dies wurde auch bei einer photoinduzierten Reduktion beobachtet.^[60]

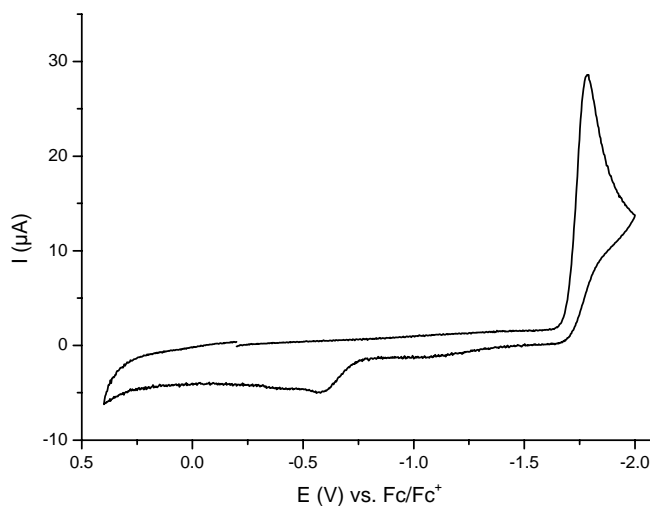


Abb. 2.5-13: Cyclovoltammogramm von **24** in Acetonitril, Vorschubgeschwindigkeit: 250mV/s, 0,1M TBAHFP.

Im Cyclovoltammogramm von **S-29** erkennt man die irreversiblen Oxidationen von Binaphtyl und Deazaflavin. Weiterhin sind zwei Reduktionswellen detektierbar. Die erste entspricht der reversiblen Reduktion von Flavin bei einem Halbstufenpotential von $E_{1/2} = -1131\text{mV}$ und die zweite gehört der Reduktion von Deazaflavin bei einem katodischen Potential von $E_{pc} = -1746\text{mV}$ an. (*Abbildung 2.5-14*)

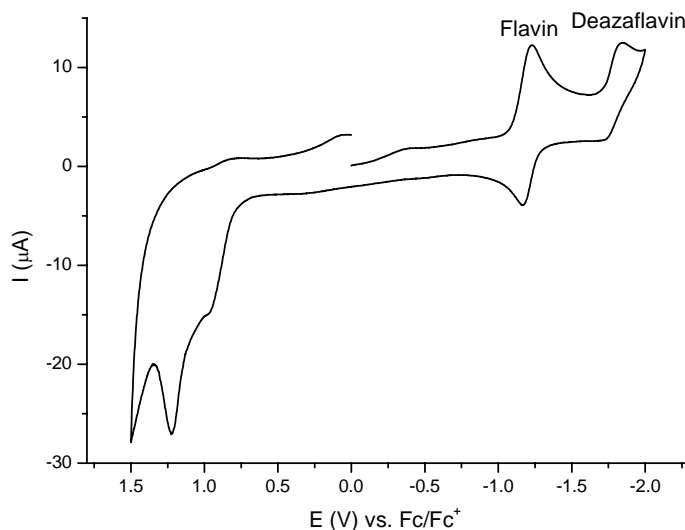


Abb. 2.5-14: Cyclovoltammogramm von **S-29** in Methylenchlorid, Vorschubgeschwindigkeit: 250mV/s, 0,1M TBAHFP.

Im Fall der Reduktionsprozesse handelt es sich jeweils um Einelektronenübertragungen. Die Lage der Halbstufenpotentiale ist im Vergleich mit den Bausteinen **5** und **24** nur leicht verschoben. (Tabelle 2.5-3)

| Verbindung | $E_{1/2}$ (mV) |
|-------------|--|
| 5 | -1124 |
| 24 | -1729 ^a |
| S-29 | -1131 (Isoalloxazin) -1746 ^a (Deazaflavin) |

(a) kathodisches Potential - E_{pc}

Tabelle 2.5-3: Die Halbstufenpotentiale von **S-29** und dessen Bausteine **5** und **24**, gegen Fc/Fc^+ , in Acetonitril.

Ähnlich wie bei den Diaden **12** und **13**, sowie der Triade **17**, hat das Binaphtylgerüst keinen Einfluss auf die elektrochemischen Eigenschaften der Subchromophore und vermittelt keine Wechselwirkung.

Zur Verdeutlichung der Reduktionsprozesse von **S-29** sind die Absorptionsspektren in Acetonitril dargestellt. Während der ersten Reduktion (Flavin) erfolgt der Rückgang der Neutralbanden bei 469, 440 und 330nm während bei 503 und 364nm Radikalanionbanden herauswachsen, obwohl das gesamte Spektrum durch die Deazaflavinabsorption geprägt ist. (Abbildung 2.5-15)

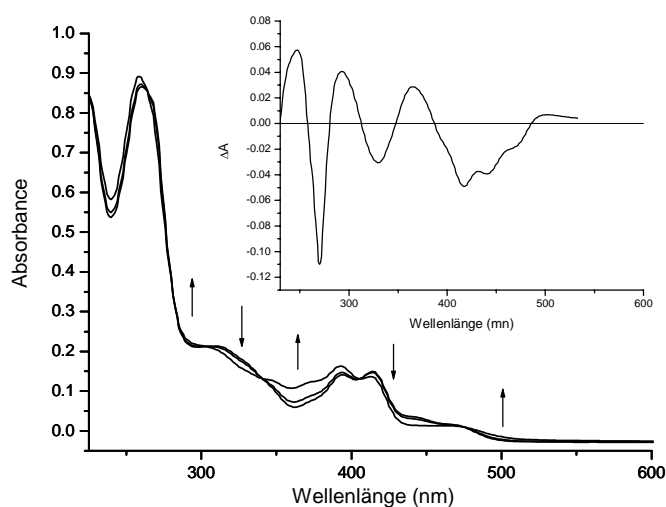


Abb. 2.5-15: Absorptionsspektrum von **S-29** in Acetonitril während der ersten Reduktion; inset: Differenzspektrum.

Der zweite Reduktionsprozess zeigt im Absorptionsspektrum die Abnahme der Banden bei 468, 413, 392 und 257nm und die Zunahme der Banden bei 306nm. Der Rückgang der Banden bei 413 und 392nm hängt mit der Reduktion von Deazaflavinbaustein zusammen, dessen Absorptionsmaxima gerade bei 413 und 392nm liegen. (*Abbildung 2.5-16*) Die Wiederherstellung des Absorptionsspektrums der neutralen Verbindung ist aufgrund der irreversiblen Reduktion des Deazaflavinchromophors nicht mehr möglich.

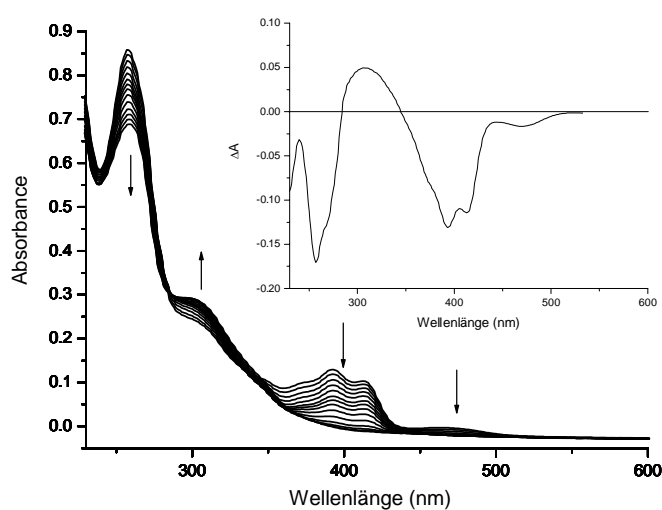


Abb. 2.5-16: Absorptionsspektren von **S-29** in Acetonitril während der zweiten Reduktion; inset: Differenzspektrum.

Die elektrochemischen und spektroelektrochemischen Untersuchungen der Diade **S-29** bestätigen, dass die elektrochemischen Eigenschaften der zurückliegenden Chromophoreinheiten weitgehend erhalten bleiben, entkoppelt sind und sich nicht elektrochemisch beeinflussen.

Im Vergleich zur Phenothioazin-Flavin-Diade **13**, soll die Phenothiazin-Flavin-Diade **34** die Aussage über die Wechselwirkung der Chromophore mit direkter Verknüpfung der π -Systeme leisten. Das Cyclovoltammogramm in *Abbildung 2.5-17* schildert die elektrochemischen Prozesse, die in der Phenothiazin-Flavin-Diade **34** verlaufen. Im oxidativen Bereich ist die reversible Oxidation vom Phenothiazinbaustein bei einem Halbstufenpotential $E_{1/2} = 335\text{mV}$ zu finden. Der reduktive Bereich ist durch die reversible Reduktion vom Flavinbaustein bei einem Halbstufenpotential $E_{1/2} = -1143\text{mV}$ geprägt. In beiden Fällen handelt es sich um eine Einelektronübertragung. In *Tabelle 2.5-4* sind die elektrochemischen Daten der Diade und der Chromophorbausteine zusammengefasst.

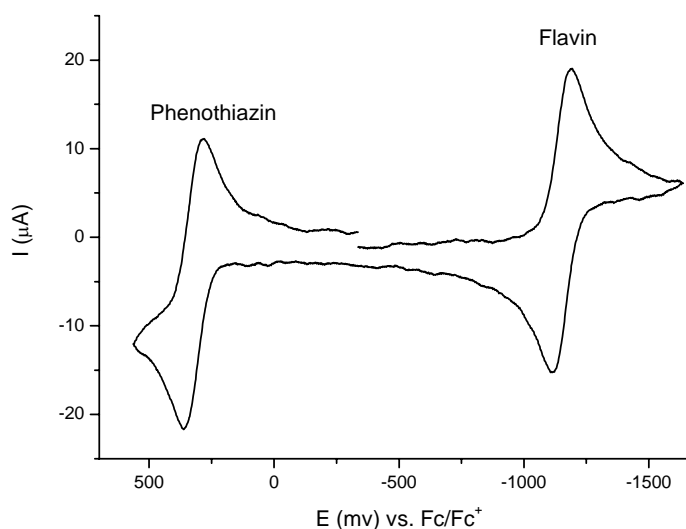


Abb. 2.5-17: Cyclovoltammogramm von **34** in Acetonitril, Vorschubgeschwindigkeit: 250mV/s, 0,1M TBAHFP.

| Verbindung | $E_{1/2}$ (mV) |
|------------|--|
| 8 | 320 |
| 32 | -1120 |
| 34 | 335 (Phenothiazin) -1143 (Isoalloxazin) |

Tabelle 2.5-4: Die Halbstufenpotentiale von **34** und dessen Bausteine **8** und **32**, gegen Fc/Fc^+ , in Acetonitril.

Wegen der Unlöslichkeit der Diade **33** wurden die elektrochemischen Untersuchungen nur bei der Diade **34** durchgeführt.

Durch die Auswertung der spektroelektrochemischen Experimente kann die Kupplung zwischen den Chromophoren bestimmt werden. In *Abbildung 2.5-18* sind die Absorptionsänderungen während der Oxidation von **34** dargestellt. Die Banden bei 481, 262 und 232nm nehmen ab, während neue Banden bei 780, 527, 333 und 269nm entstehen. Die isosbestischen Punkte liegen bei 506, 445 und 265nm. Die Maxima bei 780 und 527nm sind typisch für Phenothiazinradikalkation.

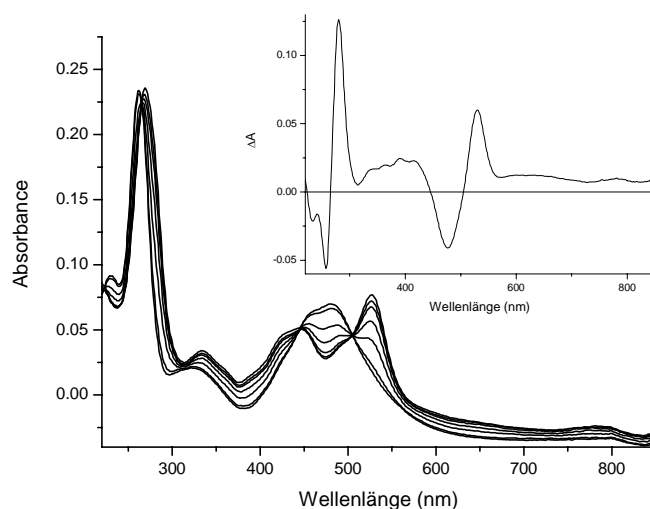


Abb. 2.5-18: Absorptionsspektren von **34** in Acetonitril während der Oxidation, inset: Differenzspektrum.

Das Absorptionsspektrum von **34** während der ersten Reduktion zeigt die Abnahme der Banden bei 481 und 262nm. Dagegen nimmt die Absorption bei 306 und 235nm zu. Das Spektrum nach diesem Prozess ist durch die Maxima bei 470, 424, 306sh, 260 und 235nm geprägt. (*Abbildung 2.5-19*) Das Spektrum unterscheidet sich deutlich von gewöhnlichen Flavinradikalanionen, was ein weiterer Hinweis für die Kopplung zwischen den Subchromophoren ist.

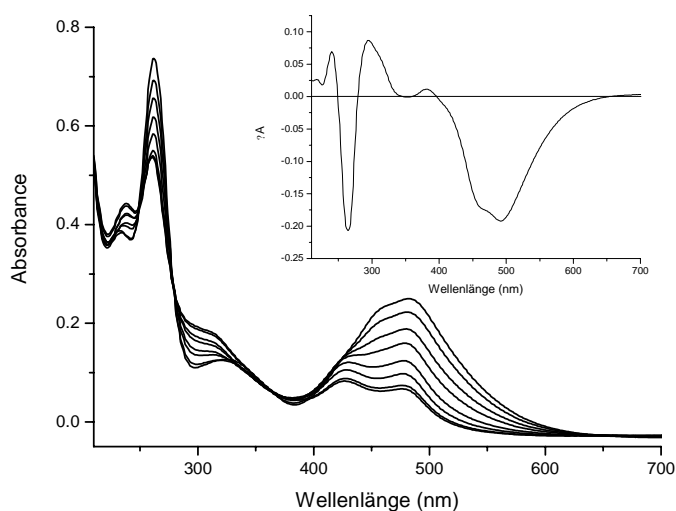


Abb. 2.5-19: Absorptionsspektren von **34** in Acetonitril während der ersten Reduktion inset: Differenzspektrum.

Während der zweiten Reduktion von **34** nehmen die Banden bei 470, 424 und 260nm ab und die Bande bei 306nm nimmt, wie nach der ersten Reduktion zu. Die isosbestischen Punkte liegen bei 363 und 281nm. (*Abbildung 2.5-20*) Das Spektrum nach der zweiten Reduktion ähnelt stark demjenigen des Flavindianions, mit dem Unterschied, dass das Maximum kurzweilig verschoben ist. Nach der Rückoxidation wird das Absorptionsspektrum von der neutralen Verbindung wieder hergestellt, was für die Reversibilität der Redoxprozesse spricht.

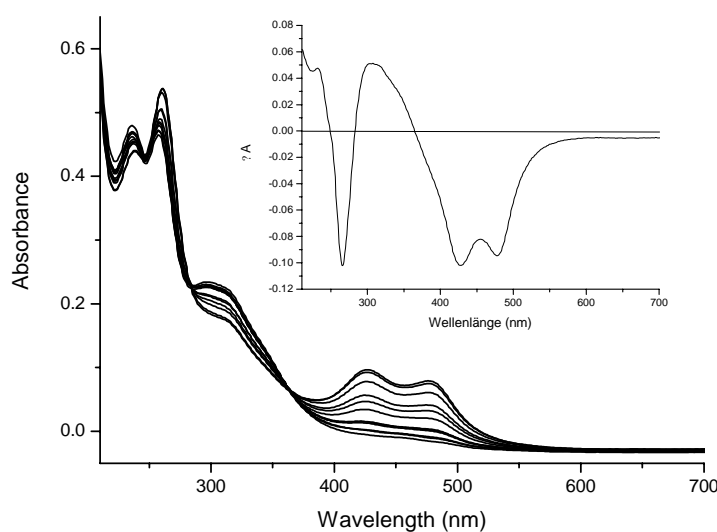


Abb. 2.5-20: Absorptionsspektren von **34** in Acetonitril während der zweiten Reduktion, inset: Differenzspektrum.

2.6 Berechnungen

Die semiempirische Berechnung der Diaden **12** und **13** und der Triade **17** soll die Anordnung der Chromophore innerhalb der Systeme darstellen und Aussagen über die möglichen Energie- und Elektronentransferprozesse zwischen den Chromophoren ermöglichen. (durchgeführt von N. Fritz und N. Acar, Universität Erlangen)

In *Abbildungen 2.6-1* und *2.6-2* sind geometrische Anordnungen mit Angabe der Abstände zwischen den Chromophoren der untersuchten Diaden **12** und **13** und die Triade **17** dargestellt. Die Abstände, die sich im Bereich von 10,9 Å bis 12,6 Å befinden, sind zur Durchführung eines effektiven Energie- bzw. Elektronentransfers zwischen den Chromophoren ausreichend. In *Tabelle 2.6-1* sind die Abstände aufgelistet. Gleichzeitig ist zu erwähnen, dass sich die Geometrie der Systeme von Lösungsmittel zu Lösungsmittel ändert.

| Verbindung | Chromophorenpaar | Abstand (Å) |
|------------|---------------------|-------------|
| 12 | Phenothiazin-Flavin | 11,8 |
| 13 | Pyren-Flavin | 12,6 |
| 17 | Pyren-Flavin | 11,4 |
| | Phenothiazin-Flavin | 10,9 |
| | Pyren-Phenothiazin | 10,9 |

Tabelle 2.6-1: Berechnete Abstände der Chromophore innerhalb der Systeme in der Gasphase.

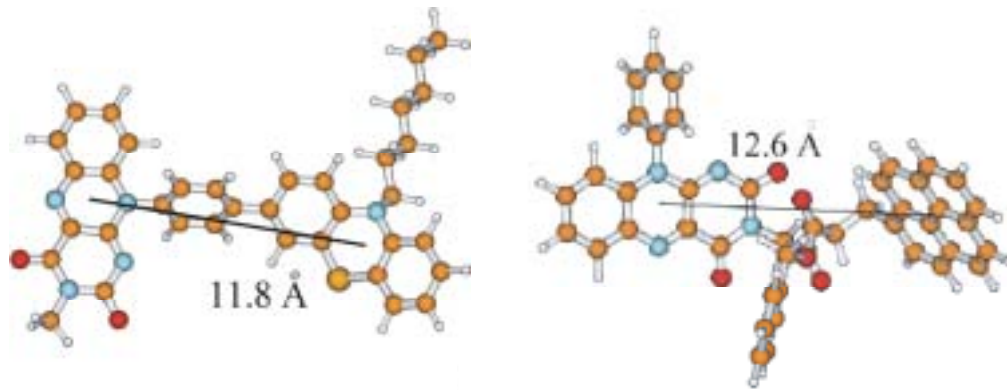


Abb. 2.6-1: Berechnete Struktur von Phenothiazin-Flavin-Diade **12** (links) und von Pyren-Flavin-Diade **13** (rechts), mit der Angabe der Entfernungen zwischen den Chromophoren in der Gasphase.

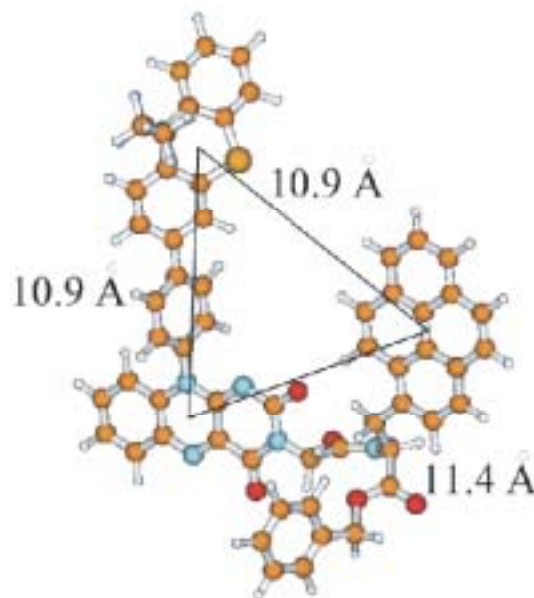


Abb. 2.6-2: Berechnete Struktur von Pyren-Phenothiazin-Flavin-Diade **17**, mit der Angabe der Entfernungen zwischen den Chromophoren in der Gasphase.

2.7 Zusammenfassung

Die untersuchten Diaden und Triade haben uns einen Einblick in die biochemischen Prozesse verschafft, die in Cryptochromen ablaufen. Bei Systemen **12**, **13** und **17** wurden die photophysikalischen Prozesse wie Energie- oder Elektronentransfer nachgeahmt. Es zeigte sich, dass ein Elektronentransferprozess innerhalb der Diade **12** von Phenothiazin zu Flavin stattfindet. Diese Feststellung ist sehr wichtig für eine weitere Nachahmung der komplexen Prozesse im Cryptochrom, denn das Flavin ist in der Folge

fähig ein Elektron an einen Reaktionspartner abzugeben. In der Diade **13** konnte der Energietransferprozess von Pyren zu Flavin nachgewiesen werden. Die Anregung des Pyrenbausteins zeigt eine schwache Flavinfluoreszenz. Das Verhalten der Triade **17** basiert auf den Prozessen, die innerhalb der Diaden **12** und **13** verlaufen. Wie im Falle von **13** ist auch hier die Pyrenfluoreszenz stark gequencht, und eine sehr schwache Emission im Bereich von 425 bis 650nm ist vorhanden.

Die Untersuchung der Diade **S-29** zeigte unerwartet keinen Energietransferprozess von Deazaflavin zu Flavin. Dies geschieht aufgrund einer Geometriereorganisation im angeregten Zustand. Die Verbindung **34** weist eine negative Solvatochromie aufgrund der Ladungstrennung im Grundzustand auf.

Literaturverzeichnis

- [1] L. Stryer, *Biochemistry*, Freeman, New York, **1995**.
- [2] M. Menaker, *Science* **2003**, 299, 213.
- [3] N. Suetsugu, M. Wada, *Curr. Opin. Plant Biol.* **2003**, 6, 91.
- [4] A. Sancar, *Annu. Rev. Biochem.* **2000**, 69, 31.
- [5] J. M. Christie, W. R. Briggs, *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 11457.
- [6] A. R. Cashmore, J. A. Jarillo, Y.-J. Wu, D. Liu, *Science* **1999**, 284, 760.
- [7] A. Sancar, *Chem. Rev.* **2003**, 103, 2203.
- [8] D. Gust, T. A. Moore, A. L. Moore, A. N. Macpherson, A. Lopez, J. M. DeGraziano, I. Gouni, E. Bittersmann, G. R. Seely, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 11141.
- [9] R. M. Hermant, P. A. Liddell, S. Lin, R. G. Alden, H. K. Kang, A. L. Moore, T. A. Moore, D. Gust, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 2080.
- [10] T. A. Moore, D. Gust, A. L. Moore, *Pure Appl. Chem.* **1994**, 66, 1033.
- [11] A. L. Moore, T. A. Moore, D. Gust, J. J. Silber, L. Sereno, F. Fungo, L. Otero, G. Steinberg-Yfrach, P. A. Liddell, S. C. Hung, H. Imahori, S. Cardoso, D. Tatman, A. N. Macpherson, *Pure Appl. Chem.* **1997**, 69, 2111.
- [12] S. Shinoda, H. Tsukube, Y. Nishimura, I. Yamazaki, A. Osuka, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 3757.
- [13] E. Marino-Ochoa, R. Palacios, G. Kodis, A. N. Macpherson, T. Gillbro, D. Gust, T. A. Moore, A. L. Moore, *Photochemistry and Photobiology* **2002**, 76, 116.
- [14] S. L. Gould, G. Kodis, R. E. Palacios, L. de la Garza, A. Brune, D. Gust, T. A. Moore, A. L. Moore, *J. Phys. Chem. B* **2004**, 108, 10566.
- [15] T. Carell, R. Epple, *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 1245.
- [16] T. Carell, R. Epple, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 986.
- [17] R. Epple, T. Carell, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 7318.
- [18] T. Carell, S. Arnold, M. K. Cichon, *Angew. Chem.* **2002**, 114, 793.
- [19] H. A. Staab, P. Kirsch, M. F. Zipplies, A. Weinges, C. Krieger, *Chem. Ber.* **1994**, 127, 1653.
- [20] P. Kirsch, R. L. Krauth-Siegel, A. Schönleben-Janass, P. R. E. Mittl, R. H. Schirmer, *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 1549.
- [21] T. Nagamatsu, Y. Hashiguchi, F. Yoneda, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1984**, 561.
- [22] T. Kimachi, K. Tanaka, F. Yoneda, *J. Het. Chem.* **1989**, 26, 1255.
- [23] S. Youssif, *Monatsh. Chem.* **1999**, 130, 819.
- [24] E. E. Carlson, L. L. Kiessling, *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 2614.
- [25] M. Fujita, H. Oka, K. Ogura, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 5427.
- [26] J. Strauss, Diss. thesis, Univ. Regensburg (Regensburg), **2002**.
- [27] F. Yoneda, Y. Sakuma, M. Ichiba, K. Shinomura, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 830.
- [28] W. B. Cowden, I. A. Clark, N. H. Hunt, *J. Med. Chem.* **1988**, 31, 799.
- [29] W. Kremers, J. W. Stale, *Can. J. Chem.* **1967**, 45, 745.

- [30] G. Mehta, T. Sambaiah, B. Maiya, M. Sirish, A. Dattagupta, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1995**, 295.
- [31] P. Stoss, G. Satzinger, *Chem. Ber.* **1978**, 111, 1453.
- [32] N. Miyaura, A. Suzuki, *Chem. Rev.* **1995**, 95, 2457.
- [33] J. Tsuji, *Palladium Reagents and Catalysts.*, John Wiley & Sons, Chichester, **1995**.
- [34] F. Diederich, P. J. Stang, *Metal Catalyzed Cross-coupling Reactions*, Wiley-VCH, Weinheim, **1998**.
- [35] J. K. Stille, *Angew. Chem.* **1986**, 98, 504.
- [36] A. J. Smith III, G. R. Ott, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 3935.
- [37] K. C. Nicolaou, Y. He, F. Roschinger, N. King, D. Vourlouinis, T. Li, *Angew. Chem.* **1998**, 110.
- [38] P. Wallimann, S. Mattei, P. Seiler, F. Diederich, *Helv. Chim. Acta* **1997**, 80, 2368.
- [39] T. Kimachi, K. Tanaka, F. Yoneda, *J. Het. Chem.* **1991**, 28, 439.
- [40] J. Davoll, D. D. Evans, *J. Chem. Soc.* **1960**, 5041.
- [41] G. Beer, Diss. thesis, Universität Regensburg (Regensburg), **2001**.
- [42] T. Cai, D. L. Hughes, T. R. Verhoeven, P. J. Reider, *Tetrahedon Lett.* **1995**, 7991.
- [43] J. Strauss, Dipl. thesis, Universität Regensburg (Regensburg), **1999**.
- [44] C. S. Krämer, K. Zeitler, T. J. J. Müller, *Tetrahedon Lett.* **2001**, 42, 8619.
- [45] C. Reichhart, *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry.*, VCH Publishers, Weinheim, **1988**.
- [46] C. Reichardt, A. Roehling, G. Schaefer, *J. Phys. Org. Chem.* **2003**, 16, 682.
- [47] K. Herodes, J. Koppel, C. Reichardt, I. A. Koppel, *J. Phys. Org. Chem.* **2003**, 16, 626.
- [48] C. Reichardt, *Chem. Rev.* **1994**, 94, 2319.
- [49] A. J. W. G. Visser, F. Müller, *Helv. Chim. Acta* **1979**, 62, 593.
- [50] K. Yagi, N. Ohishi, K. Nishimoto, J. D. Choi, P.-S. Song, *Biochemistry* **1980**, 19, 1553.
- [51] P.-S. Song, *Flavins and Flavoproteins, Vol. 37*, University Park Press, Baltimore, **1971**.
- [52] S. Ghisla, V. Massey, J.-M. Lhoste, S. G. Mayhew, *Biochemistry* **1974**, 13, 589.
- [53] S. Ghisla, *Methods Enzymol.* **1980**, 66, 360.
- [54] J. Strauss, J. Daub, *Org. Lett.* **2002**, 4, 683.
- [55] F. M. Winnik, *Chem. Rev.* **1993**, 93, 587.
- [56] M. Klessinger, J. Michl, *Excited States and Photochemistry of Organic Molecules.*, VCH, Weinheim, **1994**.
- [57] D. S. Karpovich, G. J. Blanchard, *J. Phys. Chem.* **1995**, 99, 3951.
- [58] D. A. van Dyke, B. A. Pryor, P. G. Smith, M. R. Topp, *J. Chem. Educ.* **1998**, 75, 615.
- [59] F. Elisei, L. Latterini, G. G. Aloisi, U. Mazzucato, G. Viola, G. Miolo, D. Vedaldi, F. Dall'Acqua, *Photochemistry & Photobiology* **2002**, 75, 11.
- [60] P. A. J. Link, H. C. Van der Plas, F. Mueller, *Photochemistry and Photobiology* **1987**, 45, 557.
- [61] M. Sun, P.-S. Song, *Biochemistry* **1973**, 12, 4663.
- [62] S. T. Kim, P. F. Heelis, A. Sancar, *Biochemistry* **1992**, 31, 11244.
- [63] B. Giovani, M. Byrdin, M. Ahmad, K. Brettel, *Nat. Struct. Biol.* **2003**, 10, 489.
- [64] J. Heinze, *Angew. Chem.* **1984**, 96, 823.
- [65] F. Müller, *Chemistry and Biochemistry of Flavoenzymes.*, CRC Press, Boca Raton, FL, **1991**.
- [66] A. Niemz, V. M. Rotello, *Acc. Chem. Res.* **1999**, 32, 44.
- [67] R. Deans, A. Niemz, E. Breinlinnger, V. M. Rotello, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 10863.
- [68] B. König, M. Pelka, R. Reichenbach-Klinke, J. Schelter, J. Daub, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 2297.
- [69] A. Niemz, J. Imbriglio, V. M. Rotello, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 887.
- [70] H. Spreitzer, M. Scholz, G. Gescheidt, J. Daub, *Liebigs Ann.* **1996**, 2069.
- [71] A. Knorr, J. Daub, *Angew. Chem.* **1998**, 36, 2817.
- [72] J. Daub, R. Engl, J. Kurzawa, S. E. Miller, S. Schneider, A. Stockmann, M. R. Wasielewski, *J. Phys. Chem. A* **2001**, 105, 5655.
- [73] A. Knorr, Diss. thesis, Universität Regensburg (Regensburg), **1995**.
- [74] C. Westermeier, H.-C. Gallmeier, M. Komma, J. Daub, *Chem. Commun.* **1999**, 2427.
- [75] P. A. J. Link, H. C. van der Plas, F. Müller, *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 1602.

3 Phototropin-Modellsysteme

3.1 Einführung

Das Protein Phototropin ist ein wichtiger Photorezeptor, der in der Natur den Phototropismus der Pflanzen^[1, 2], die Bewegung der Chloroplasten^[3-5] und das Öffnen der Stomata^[6] steuert. Es besteht aus zwei Domänen, die als LOV1 und LOV2 bezeichnet werden, sowie einem Serin/Threoninkinase-Teil. (*Abbildung 3.1-1*)



Abb. 3.1-1: Schematische Darstellung von Phototropin-protein NPH1 aus *Avena sativa*.

Der Begriff LOV leitet sich aus den englischen Bezeichnungen für Licht, Sauerstoff und Spannung (light, oxygen, voltage) ab, denn LOV1- und LOV2-Domänen sind sensitiv gegenüber Licht, Sauerstoff und elektrischem Potential. Jede LOV-Domäne beinhaltet ein über nichtkovalente Wechselwirkungen (Wasserstoffbrücken) gebundenes FMN. Nur Proteine mit zwei LOV-Domänen werden als Phototropine bezeichnet. Daneben gibt es in der Natur auch andere Proteine, die mindestens eine LOV-Domäne besitzen, wie z.B. LOV-Histidinkinasen, LOV-Phosphodiesterasen und Proteine, die am Circadianzyklus beteiligt sind.^[7]

Die Photosensitivität der LOV-Domänen beruht auf einer photoinduzierten Reaktion der Aminosäure Cystein mit dem Cofaktor FMN unter Bildung eines Addukts an C4a-Position des Isoalloxazins (*Abbildung 3.1-2, rechts*). Der Mechanismus der photochemischen Reaktion ist in *Abbildung 3.1-2, mitte* kurz umrissen.^[8-10] Gemäß den Absorptionseigenschaften wird der Ausgangszustand als LOV1 447 bezeichnet. Die Bildung des Addukts (LOV1 390) verläuft unter Beteiligung von zwei verschiedenen Zwischenprodukten, welche als Triplettzustände des angeregten FMNs identifiziert wurden (LOV1 715a,b). Die Adduktbildung erfolgt aus diesen Triplettzuständen.^[11] Intersystemcrossing ist bei Flavinen meist ein effizienter Prozess, z.B. beträgt die Quantenausbeute im Fall von Riboflavin in Wasser 40-60%.^[12, 13] Das Spektrum des angeregten FMN zeigt eine Triplett-Triplett-Absorption im roten Bereich mit zwei Maxima bei 710 und 660 nm.^[14]

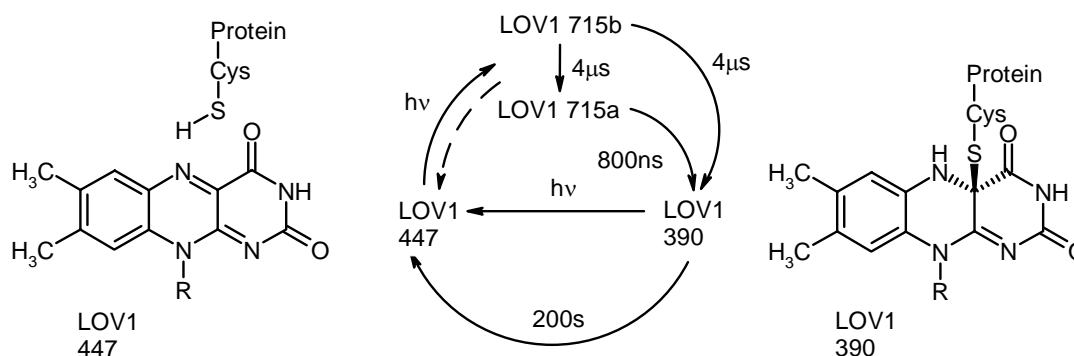
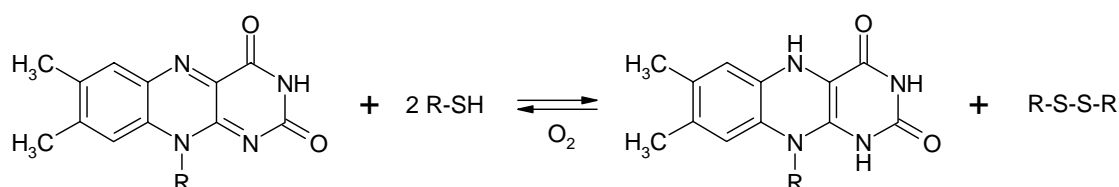


Abb. 3.1-2: Photozyklus eines Wildtyps der LOV1-Domäne.

3.1.1 Schwefelverbindungen in der Natur

Die biologische Bedeutung von Schwefelverbindungen in der Natur ist sehr groß. Viele Schwefelverbindungen, wie Acetylkoenzym A, Biotin oder Liponsäure sind als primäre Zellprodukte für das Leben unentbehrlich. So ist Acetylkoenzym A eine energiereiche Verbindung, mit ΔG° für die Hydrolyse der Thioesterbindung von $-31,5 \text{ kJ/mol}$. Der Energiegewinn ist damit etwas größer als bei der ATP-Hydrolyse. Thiole sind an vielen wichtigen biologischen Prozessen beteiligt wie z.B. der Biosynthese von Biotin (Vitamin K) und der Biosynthese von Penicilin.^[15]

Die Eigenschaft des Isoalloxazins eine Reduktion mit Thiolen einzugehen, wurde in vergangenen Jahren gut erforscht. Isoalloxazine lassen sich mit Thiolen unter Sauerstoffausschluss in Gegenwart von einer Base leicht zu einem vollständig reduzierten Flavin chemisch reduzieren.^[15-19] (Schema 3.1-2)



Schema 3.1-2: Reduktion von Flavin mit Thiol.

Die Reduktion kann auch photochemisch durchgeführt werden.^[20] Das vollständig reduzierte Flavin ist instabil und wird durch Sauerstoff zum Ausgangsprodukt reoxidiert. Dieser katalytische Charakter des Isoalloxazins ist längst bekannt. Es gehört zu den wichtigsten Prozessen, die mit Flavin in der Natur ablaufen wie z.B. in *Dihydrolipoyl-Dehydrogenase* (FAD-FADH₂) oder in *Glutathion-Reduktase*.^[21]

Die photochemisch induzierte C4a-Adduktbildung zwischen FMN und Cystein in Phototropin stellt die zur Zeit meistuntersuchte Flavin-Thiol-Reaktion dar.^[7-9, 22-31] ADDIN

3.1.2 Photozyklus

Der Photozyklus im Phototropin verläuft folgendermaßen: Nach Lichtanregung und Intersystemcrossing reagiert das Flavin aus dem Triplettzustand mit der Aminosäure Cystein unter Ausbildung eines C4a-Addukts. (*Abbildung 3.1-2*) Die C4a-Adduktbildung zwischen Cystein und FMN verändert die Konformation des Proteins. Das führt zur Aktivierung der Kinase und dadurch zur weiteren Signalkaskade des Proteins zu einer physiologischen Reaktion. Nach einigen Minuten zerfällt das Addukt wieder in den Ausgangszustand. In gewisser Hinsicht handelt es sich bei dieser photochemischen Reaktion um einen photochromen Prozess wie auch bei anderen biologischen Prozessen (Rhodopsin, Retinal). Die neuesten Ergebnisse aus der Literatur zeigen, dass man diese Reaktion mit Licht unterschiedlicher Wellenlängen vollständig in beide Richtungen steuern kann.^[31]

Der Grund dafür, dass im Phototropin zwei Domänen (LOV1, LOV2) vorhanden sind, ist noch unklar, da die qualitative Funktion der beiden Einheiten gleich ist. Ein quantitativer Unterschied existiert aber. Es zeigt sich, dass die Kinetik der beiden Domänen davon abhängt, von welchem Organismus das Phototropin (phot1, phot2) stammt. Im phot1 zeigt die LOV2-Domäne eine höhere Quantenausbeute der Adduktbildung und einen langsameren Zerfall als die LOV1-Domäne. Im phot2 sind die Quantenausbeuten der Adduktbildung miteinander vergleichbar, aber der Zerfall des Addukts ist bei der LOV2-Domäne schneller.^[7]

Das Ziel in diesem Teil der Doktorarbeit ist die Nachahmung der photochemischen Prozesse in Phototropin. Dazu wurden vereinfachte Flavinsysteme **38-41**, **43**, **44**, **47** und **48** synthetisiert und untersucht. (*Tabelle 3.1-1*)

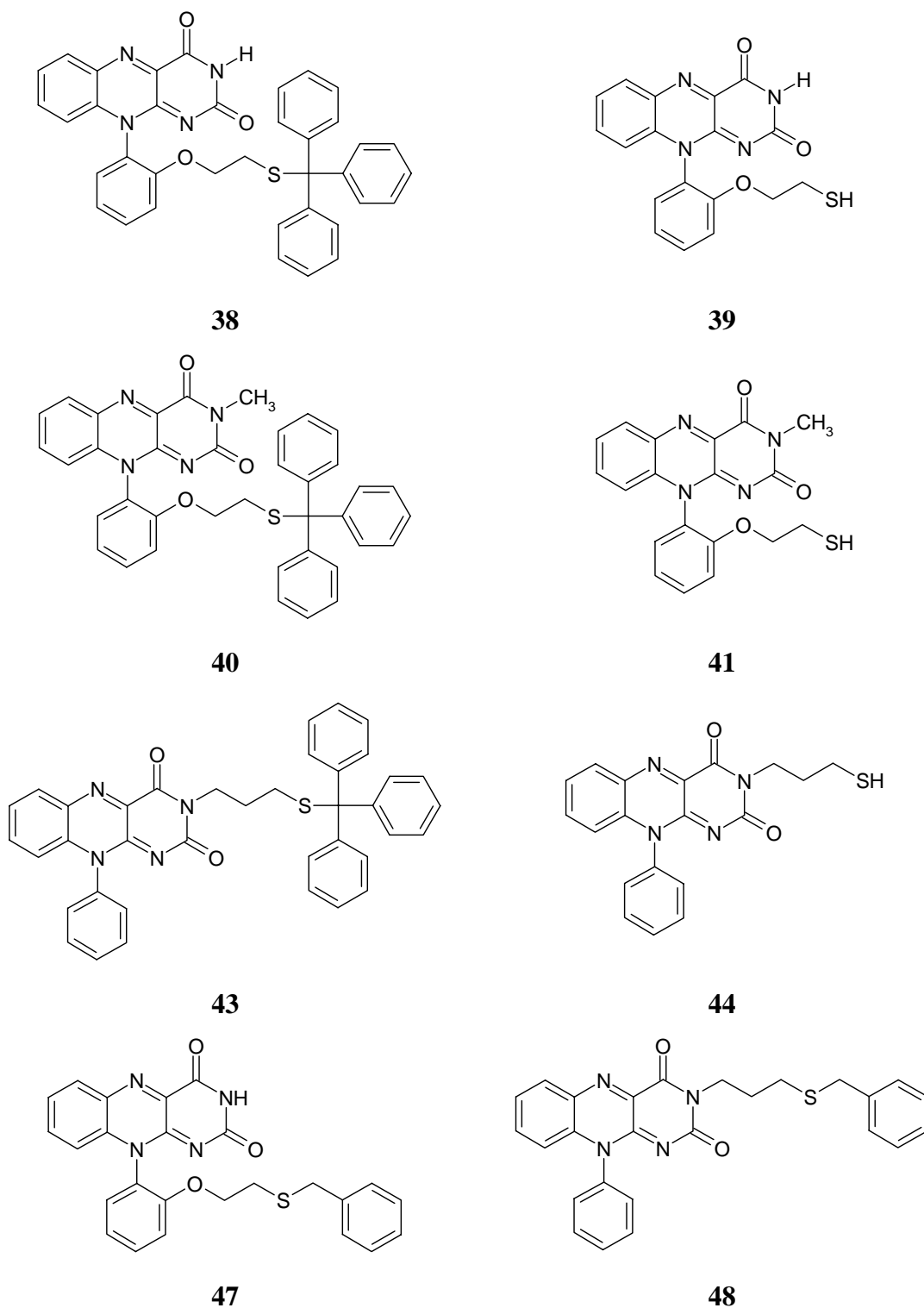
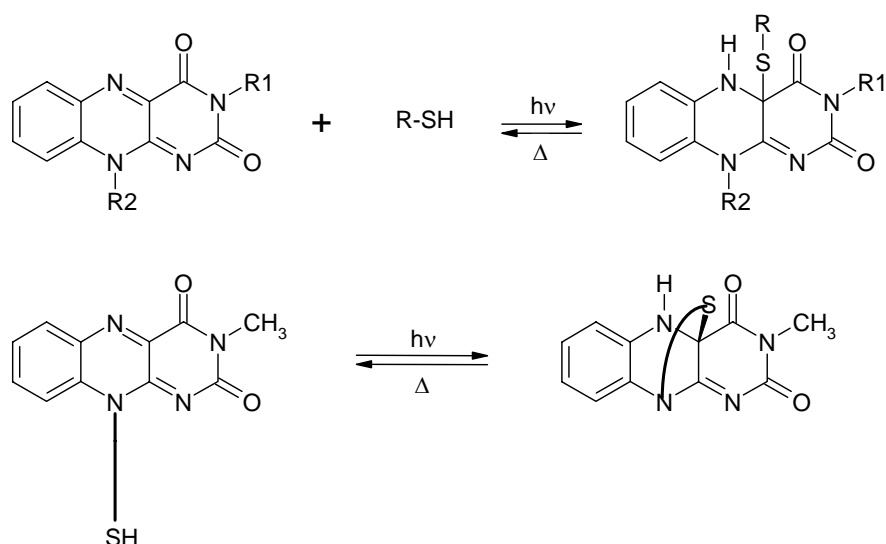


Tabelle 3.1-1: Synthetisierte Thiol-Flavine.

Die Kettenlänge der Alkylreste wurde so gewählt, dass die Thiol-Flavine **39**, **41**, **44** nach Berechnungen von C. Neiß, Universität Regensburg, ein intramolekulares C4a-Addukt bilden sollten. Dies soll durch die Bildung eines 7- bzw. 9-gliedrigen Ringes geschehen.^[19] (Schema 3.1-3) Die intermolekulare Reaktion kann aber nicht ausgeschlossen werden.

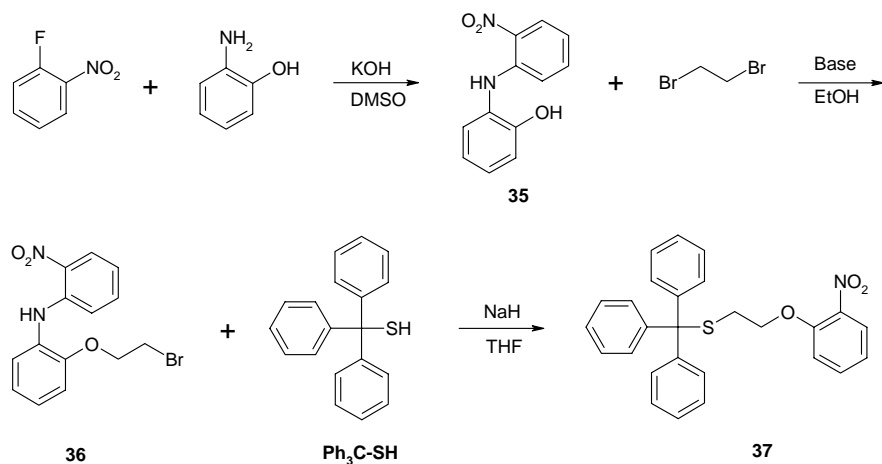


Schema 3.1-3: Reduktion von Flavin mit Thiol; intramolekulare Reaktion.

3.2 Synthese und ¹H-NMR-Untersuchungen

3.2.1 Synthese

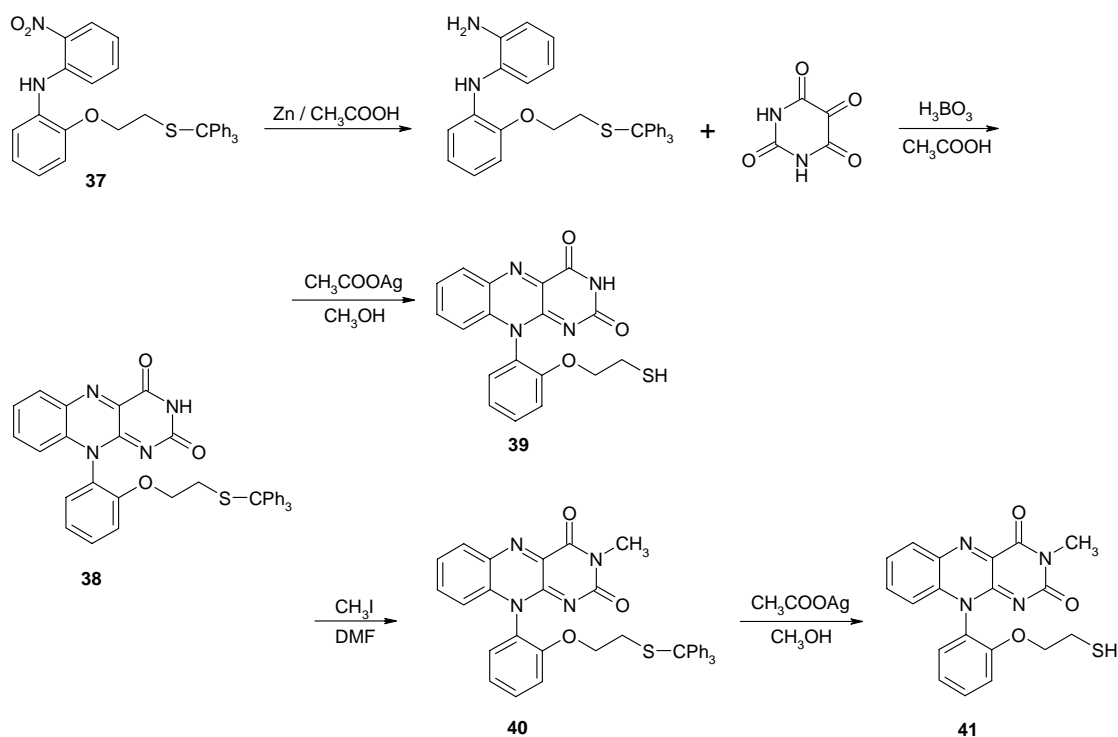
Die Synthese der Thiol-Flavine **38-41**, **43**, **44**, **47** und **48** geht von der klassischen Flavinsynthese aus (s. Kapitel 2.2.1). Ausgangspunkt sind schwefelfunktionalisierte Vorstufen, welche nach *Schema 3.2-1* dargestellt wurden.



Schema 3.2-1: Synthese der Schwefelvorstufen für die Isoalloxazinsynthese.

Anschließend wird die Kondensierung mit Alloxan-Hydrat durchgeführt. Die Abspaltung der Tritylschutzgruppe zu den Verbindungen **38**, **40** und **43** wurde mit Silberacetat in Methanol durchgeführt. (*Schema 3.2-2*)

Als problematisch zeigte sich die Unlöslichkeit und die Abspaltung der Alkylkette der Thiol-Flavine. Die Derivate mit phenolischer Substitution an der N(10)-Position, sind in organischen Lösungsmittel schwer löslich.^[32, 33] Erst durch das Entschützen der Thiolgruppe oder Methylierung an der N(3)-Position verbessert sich die Löslichkeit. So zeigen die N(3)-alkylierten Derivate eine sehr gute Löslichkeit, wie die meisten anderen methylierten Isoalloxazine.



Schema 3.2-2: Isoalloxazinsynthese und Entschützen der Thiolgruppe.

Derivate mit einer Thiolgruppe (**44** und **48**) an N(3)-Position wurden durch eine Alkylierung von Isoalloxazin mit ω -Bromalkylthioether (**42**, **45**) synthetisiert. (Schema 3.2-3 und 3.2-4)

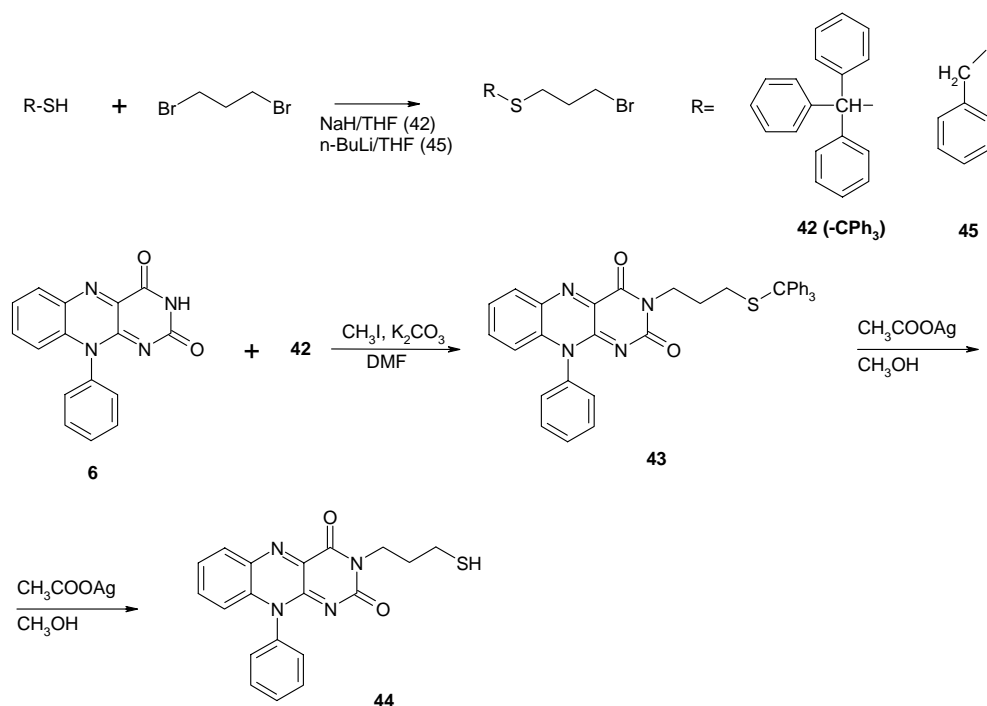
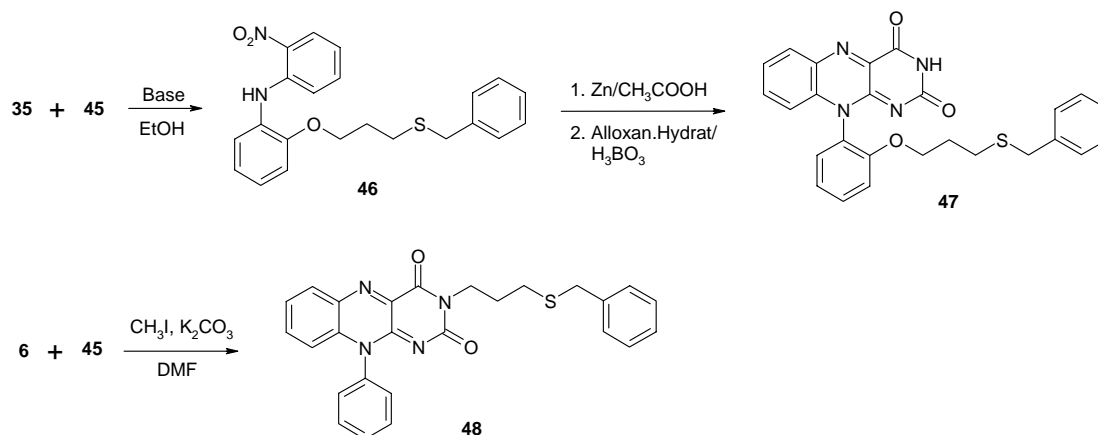


Abb. 3.2-3: Synthese der Verbindungen 42-45.

Die Darstellung von **47** erfolgt durch die Reaktion von 2-Nitro-2-hydroxyphenol **35** mit Bromalkylthioether **45** und anschließender Isoalloxazinsynthese. (Schema 3.2-4)



Schema 3.2-4: Synthese der Verbindungen 46-48.

3.2.2 ^1H -NMR-Untersuchungen

Die ^1H -NMR-Untersuchungen der Thiol-Flavine **38-41** zeigen, dass zwei Isomere entstehen. So spaltet sich die CH_2 -Gruppe an Sauerstoff in zwei diastereotop Signale auf. Eine Erklärung ist die verminderte Rotation um die Phenyl-N(10)-Bindung, ein Phänomen, welches in der Literatur Atropoisomerie genannt wird. Durch Zugabe eines chiralen Shiftmittels (S(+)-Anthrylalkohol, im 4fachen Überschuss) wurde bei der

Verbindung **40** die Aufspaltung des Signals der CH₃-Gruppe an der N(3)-Position in zwei Peaks beobachtet. Der Vergleich der Flächen und der Intensitäten der beiden Methylpeaks zeigt, dass die beiden Isomere erwartungsgemäß in einem Verhältnis 1:1 entstehen. (Abbildung 3.2-1)

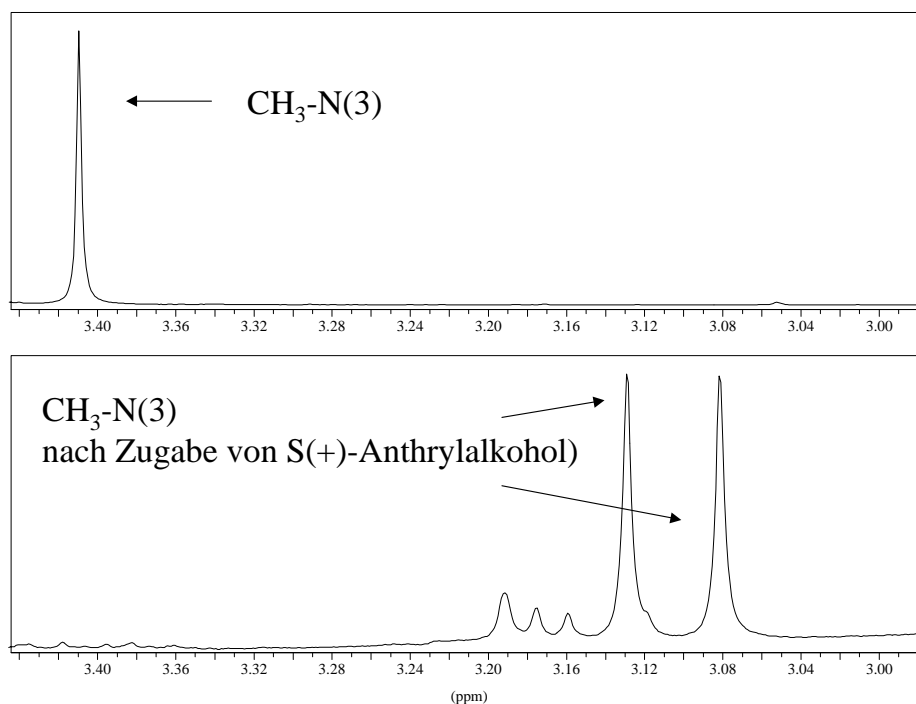


Abb. 3.2-5: Die Aufspaltung des Signals der CH₃-Gruppe an N(3) von **40** in CDCl₃ durch Zugabe von einem chiralen Shiftmittel.

Ähnliche Atropoisomere auf der Basis von Isoalloxazin (einige davon sind unter dem Namen Flavinophane bekannt) wurden bereits von *Shinkai*^[33, 34] und *Diederich*^[35] und anderen untersucht.^[36, 37] Im Vordergrund ihres Interesses stehen die Atropoisomere, die aufgrund der sterischen Hinderung durch eine voluminöse Gruppe optisch aktiv sind. In diesem Fall ist es möglich, die optische Reinheit und die Racemisierung zu steuern. Dies geschieht aufgrund einer freien Rotation um die Phenyl-N(10)-Bindung im vollreduzierten Zustand, wie es *Shinkai*^[38] beschrieben hat. Potenziell können auch die synthetisierten Thiolflavine **38-41** dieses Verhalten aufweisen.

3.3 Absorptions- und Fluoreszenzspektroskopie

Alle untersuchten Thiol-Flavine **38-41**, **43**, **44**, **47** und **48** zeigen klassische Absorptionsspektren, die sich voneinander kaum unterscheiden. (Abbildung 3.3-1) Die Absorptionsmaxima sind in Tabelle 3.3-1 aufgelistet.

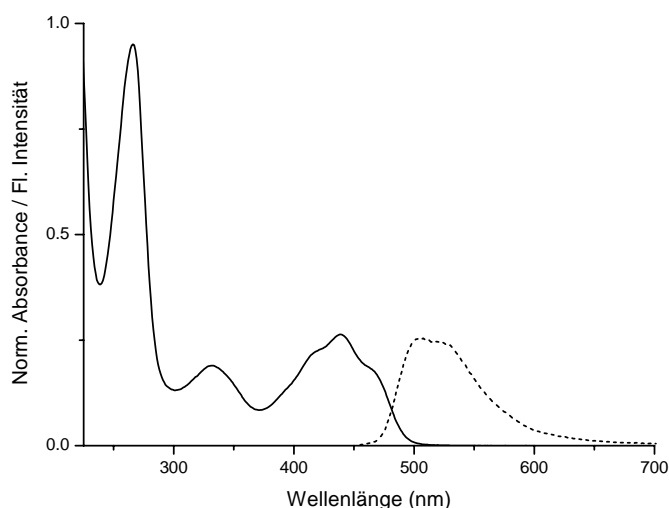


Abb. 3.3-1: Normiertes Absorption- (voll) und Fluoreszenzspektrum (---) von **41** in Acetonitril.

| Verbindung | λ (nm) / ϵ ($M^{-1}cm^{-1}$) |
|------------|---|
| 38 | 443 (11099) |
| 39 | 442 (10787) |
| 40 | 442 (11122) |
| 41 | 443 (11178) |
| 43 | 443 (11547) |
| 44 | 442 (11358) |
| 47 | 442 (10589) |
| 48 | 444 (10950) |

Tabelle 3.3-1: Absorptionsmaxima der Thiol-Flavine in Acetonitril.

Die Fluoreszenzspektren der Thiol-Flavine **38-41**, **43**, **44**, **47** und **48** sind ebenfalls identisch. (Abbildung 3.4-1) Die Fluoreszenzmaxima und Quantenausbeuten sind in der Tabelle 3.4-1 aufgelistet.

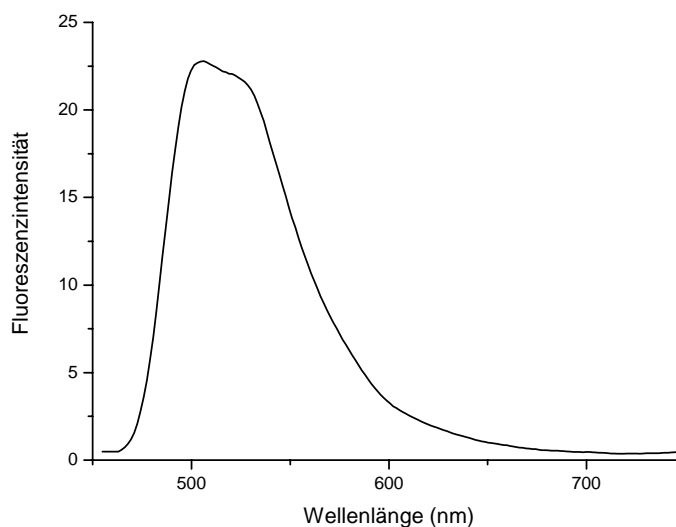


Abb. 3.4-1: Fluoreszenzspektrum von **41** in Acetonitril ($c = 5 \cdot 10^{-6} \text{ M}$).

| Verbindung | $\lambda_{ex} \text{ (nm)}$ | $\lambda_{em} \text{ (nm)}$ | Φ_f |
|------------|-----------------------------|-----------------------------|----------|
| 38 | 443 | 507 | 0,22 |
| 39 | 442 | 507 | 0,21 |
| 40 | 442 | 507 | 0,22 |
| 41 | 443 | 507 | 0,22 |
| 43 | 443 | 507 | 0,22 |
| 44 | 442 | 507 | 0,23 |
| 47 | 442 | 508 | 0,21 |
| 48 | 444 | 507 | 0,22 |

Tabelle 3.4-1: Fluoreszenzmaxima und Quantenausbeute der Thiol-Flavine (relativ zum Riboflavin in Wasser) in Acetonitril.

3.4 Bestrahlung

Die spektroskopischen Untersuchungen beruhen auf den Arbeiten von Swartz^[8], Kottke^[9] und Salomon^[25], die die Bestrahlung von einem Wildtyp (LOV1- oder LOV2-Domäne wurde aus dem Organismus in einer unveränderten Form gewonnen) durchgeführt haben. Um den Mechanismus dieser photochemischen Reaktion zu erklären, wurde die Aminosäure Cystein in der LOV-Domäne durch die Aminosäure Methionin ersetzt. In diesem Fall spricht man von einem C57M-Mutant. Bei Thiol-Flavinen mit freier Thiolgruppe **39**, **41**, **44** (wie Wildtyp) und mit geschützter Thiolgruppe **47** und **48** (wie C57M-Mutant) wurde unter Argon-Atmosphäre bestrahlt, um die photochemische Reaktion zu beobachten. Die Bestrahlung wurde von Tilman Kottke, Universität Re

gensburg durchgeführt. Belichtet wurde mit einer 100W Wolframlampe durch einen 435nm Kantenfilter.

Bestrahlung von 39 und 41 (Wildtyp)

Die Verbindungen **39**, **41** sollten wie der Wildtyp ein C4a-Addukt bilden. Bei der Bestrahlung von **39** und **41** in Methylenchlorid unter Sauerstoffabschluss wurde nach 30minütiger Belichtung keine Veränderung im Absorptionsspektrum beobachtet. (Abbildungen 3.4-1 und 3.4-2) Die Erklärung für dieses Verhalten ist, im Falle einer reversiblen Photoreaktion wie beim Wildtyp, dass die Rückreaktion schnell gegenüber der Messzeit von mehreren Minuten verläuft und das Addukt ohne entsprechende Zeitauflösung nicht nachgewiesen werden kann.

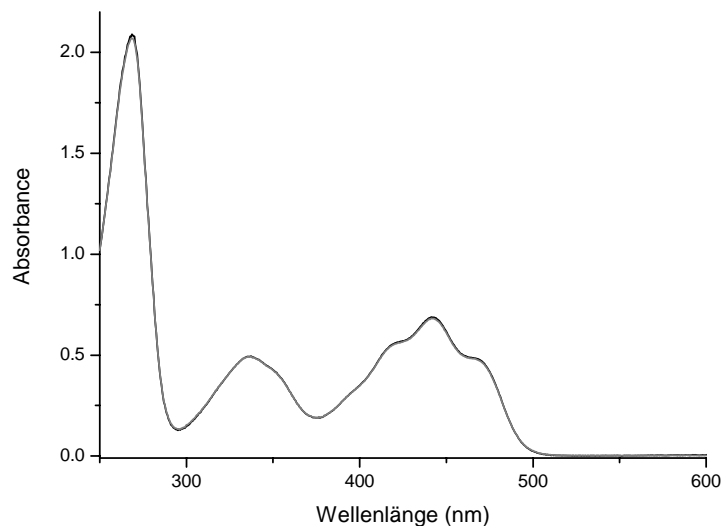


Abb. 3.4-1: Veränderung des Absorptionsspektrums während der Bestrahlung von **39** in Methylenchlorid unter Argon (schwarz-Ausgangsspektrum, grau-Spektrum nach 30min Belichten, $c = 6,5 \cdot 10^{-5} \text{M}$).

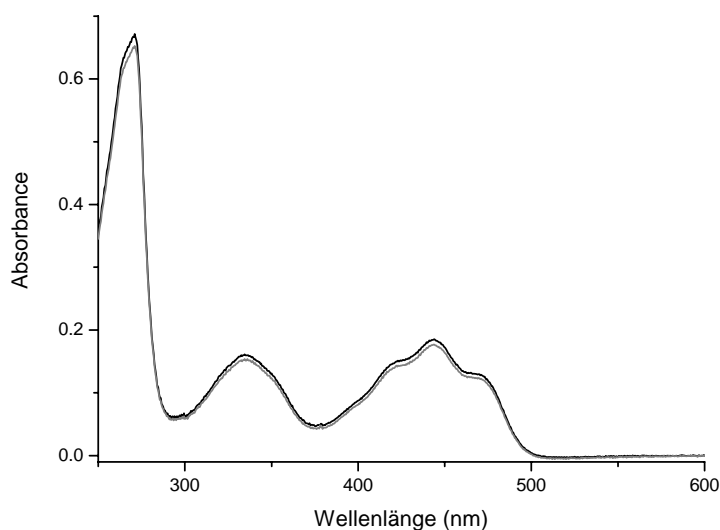


Abb. 3.4-2: Veränderung des Absorptionsspektrums während der Bestrahlung von **41** in Methylenchlorid unter Argon (schwarz-Ausgangsspektrum, grau-Spektrum nach 30min Belichten, $c = 1,8 \cdot 10^{-5} \text{M}$).

Bei der Belichtung der Verbindung **39** wurde eine stärkere Lichtquelle (Blitz) verwendet, um die C4a-Addukt-Bildung beobachten zu können. Nach dieser Belichtung zeigt sich eine nur sehr kleine Veränderung im Absorptionsspektrum, die aber nicht auf die Bildung eines C4a-Addukts zurückzuführen ist, wie man am berechneten Produktspektrum sehen kann. (Abbildung 3.4-3 und 3.4-4)

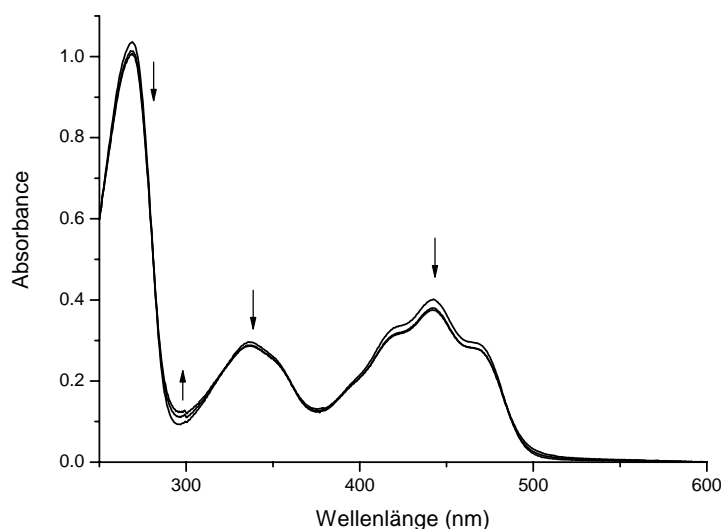


Abb. 3.4-3: Veränderung des Absorptionsspektrums während der Bestrahlung mit Blitz von **39** in Methylenchlorid ($c = 3,6 \cdot 10^{-5} \text{M}$).

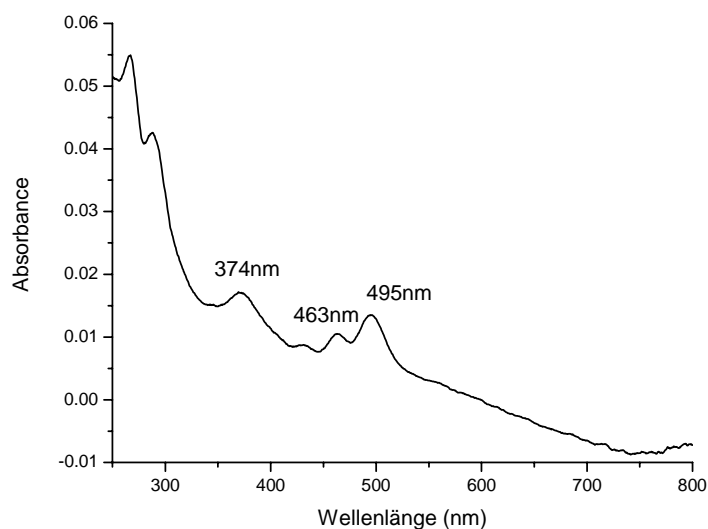


Abb. 3.4-4: Berechnung des Produktspektrums nach der Bestrahlung mit Blitz von **39** in Methylenchlorid.

Bestrahlung von 47 und 48 (C57M-Mutant)

Die Belichtung der Verbindung **47** unter Argon-Atmosphäre zeigt eine Abnahme im Absorptionsspektrum, mit isobestischen Punkten bei 317 und 283nm. (Abbildung 3.4-5) Aus dem Anfangs- und Endspektrum lässt sich ein Produktspektrum berechnen, wenn man annimmt, dass die Absorptionsbande um 443nm nicht im Produkt erhalten ist. (Abbildung 3.4-6)

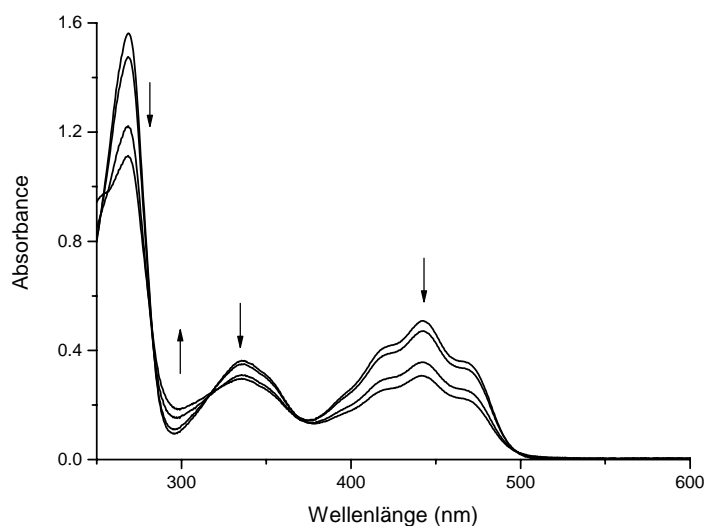


Abb. 3.4-5: Veränderung des Absorptionsspektrums während der Bestrahlung von **47** in Methylenchlorid ($c = 4,75 \cdot 10^{-5} \text{ M}$); erste Linie – Ausgangsspektrum, weitere nach 10, 20 und 100min Bestrahlung.

Aus dem berechneten Produktspektrum wird offensichtlich, dass es dem Spektrum eines Dihydroflavins ähnelt. (Abbildung 3.4-6) Gleichartiges Verhalten wurde bei ähnlichen Systemen von Hemmerich und Co. beschrieben.^[39] Sie haben eine Alkylierung an der N(5)-Position postuliert. (Schema 3.4-1)

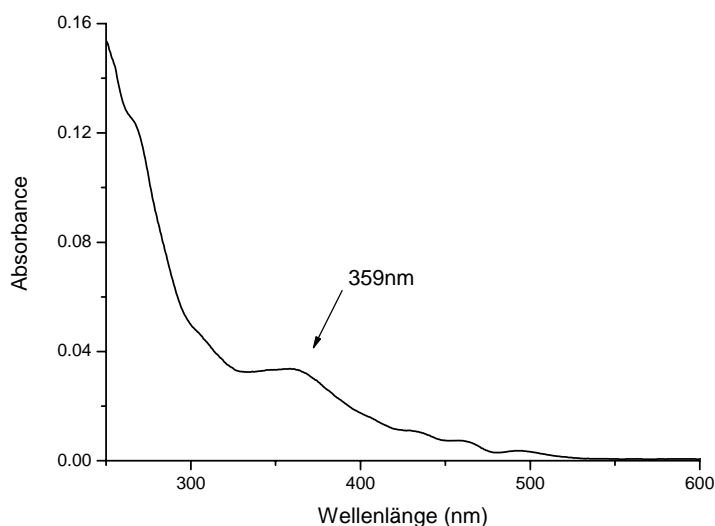
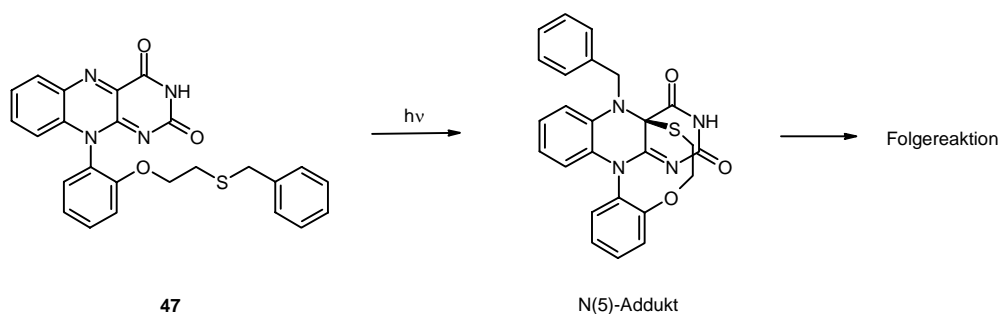


Abb. 3.4-6: Berechnung des Produktspektrums nach der Bestrahlung von **47** in Methylenchlorid.



Schema 3.4-1: Bildung des N(5)-Adduktes nach Belichtung von **47**.

Nach der Belichtung von **48** in Methylenchlorid unter Sauerstoffausschluss wurde eine ähnliche Abnahme im Absorptionsspektrum beobachtet, wie im vorherigen Fall. Man kann vermuten, dass nach der Belichtung auch ein N(5)-alkyliertes Produkt entsteht, wobei sich die Reaktionszeit verlängert. (Abbildung 3.4-7)

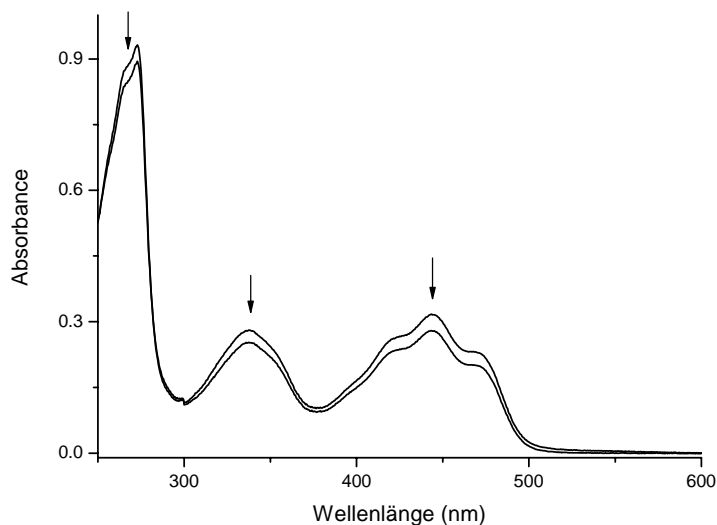


Abb. 3.4-7: Veränderung des Absorptionsspektrums während der Bestrahlung von **48** in Methylenchlorid ($c = 2,8 \cdot 10^{-5} \text{M}$); erste Linie – Ausgangsspektrum, weitere nach 10, 20 und 100min Bestrahlung.

Thiolflavine in Gegenwart von Base

Die Bestrahlung der Probe **39** wurde in Gegenwart von DBU im gesättigten Acetonitril durchgeführt. Unmittelbar nach der Zugabe von 100fachem Überschuss an DBU ändert sich das Spektrum. (Abbildung 3.4-8)

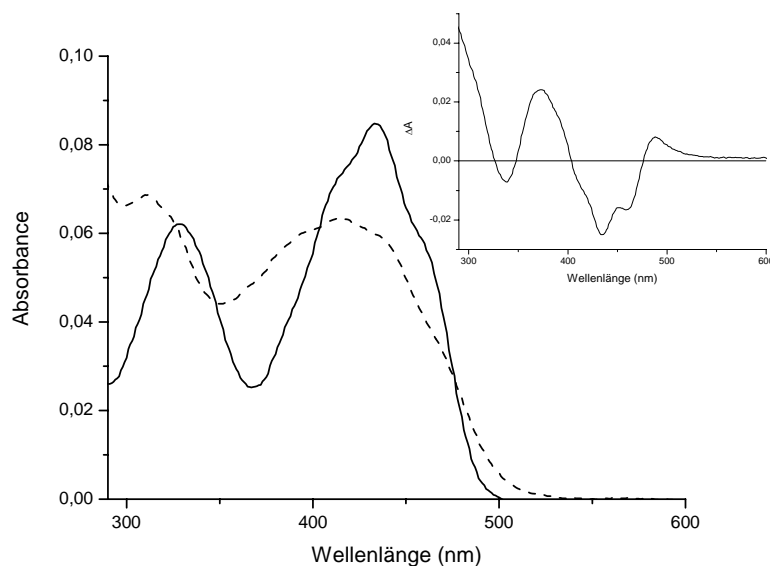
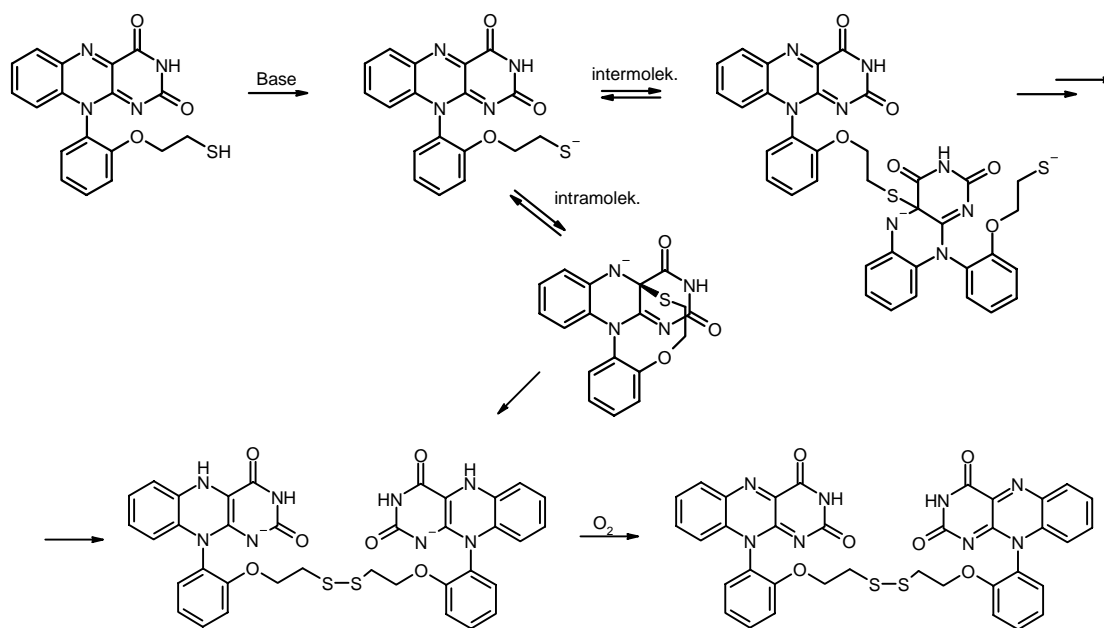


Abb. 3.4-8: Veränderung des Absorptionsspektrums von **39** vor (voll) und nach (---) der Zugabe von DBU in Acetonitril ($c = 7,6 \cdot 10^{-6} \text{M}$); inset: Differenzspektrum.

Die Form des Spektrums nach der Zugabe von DBU erinnert stark an das Absorptionsspektrum des „Flavinradikalanions“ (Kapitel 2.5). Die darauffolgende Bestrahlung führte zu keiner Veränderung im Absorptionsspektrum. Nach der Oxidation mit Luft wurde das Ausgangsspektrum nicht wiederhergestellt. Daraus kann man schließen, dass eine irreversible Reaktion abgelaufen ist. (Schema 3.4-2) Diese irreversible Reaktion wurde schon bei Verbindung **44** in der Literatur beschrieben.^[19]



Schema 3.4-1: Die Reaktion von **39** unter basischen Bedingungen.

3.5 Cyclovoltammetrie und Spektroelektrochemie

Die elektrochemischen Untersuchungen der Thiolflavine mit geschützter Thiolgruppe **38**, **40**, **43**, **47**, **48** zeigen keinen Unterschied im Vergleich zum Isoalloxazin. Die Schutzgruppe spielt offensichtlich in der Elektrochemie der untersuchten Substanzen keine Rolle. Die Halbstufenpotentiale sind in *Tabelle 3.5-1* aufgelistet.

| Verbindung | 38 | 40 | 43 | 47 | 48 |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| $E_{1/2}$ (mV) | -1144 | -1132 | -1126 | -1130 | -1120 |

Tabelle 3.5-1: Halbstufenpotentiale der Thiolflavine mit geschützten Thiolgruppe in Methylenchlorid, gegen Fc/Fc^+ .

Das Cyclovoltammogramm von **38** zeigt die Reduktionsprozesse nach dem ECE-Mechanismus (freie unsubstituierte N(3)-Position). (Abbildung 3.5-1)

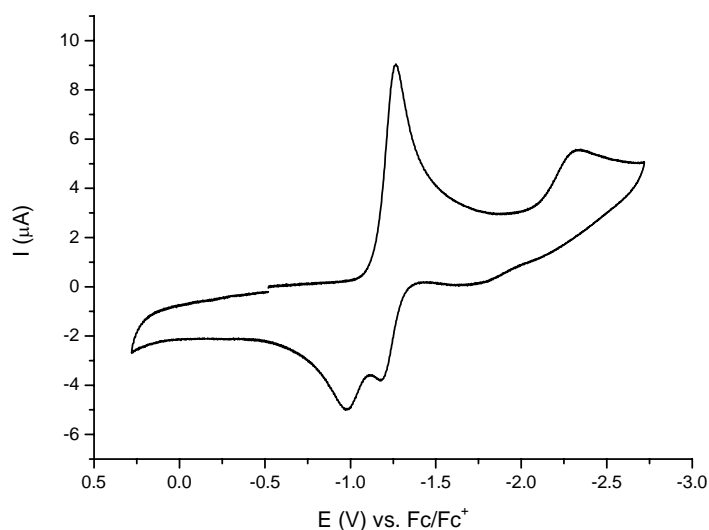


Abb. 3.5-1: Cyclovoltammogramm von **38** in Methylenchlorid, Vorschubgeschwindigkeit: 250mV/s, 0,1M TBAHFP.

Die Absorptionsspektren während der ersten und zweiten Reduktion zeigen die Generierung vom Flavinradikalanion bzw. Flavindianion. (Abbildung 3.5-2 und 3.5-3) Es ist jedoch zu beachten, dass die Spektroelektrochemie eine Dünnschichtmethode ist und die Diffusion nahezu vollständig unterdrückt wird. Eine Protonierung vom Fl_{rad}^- zu $\text{Fl}_{\text{rad}}\text{H}$ in der Lösung erfolgt daher langsam. (Abbildung 3.5-2 und 3.5-3)

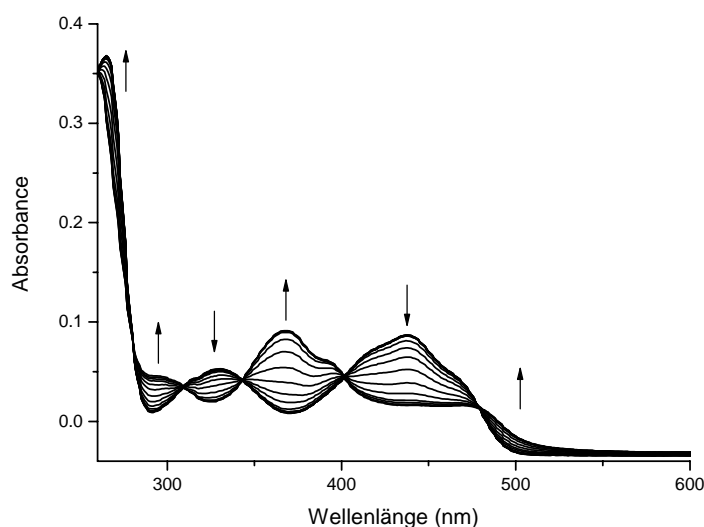


Abb. 3.5-2: Spektroelektrochemie von **38** in Methylenchlorid, 1. Prozess.

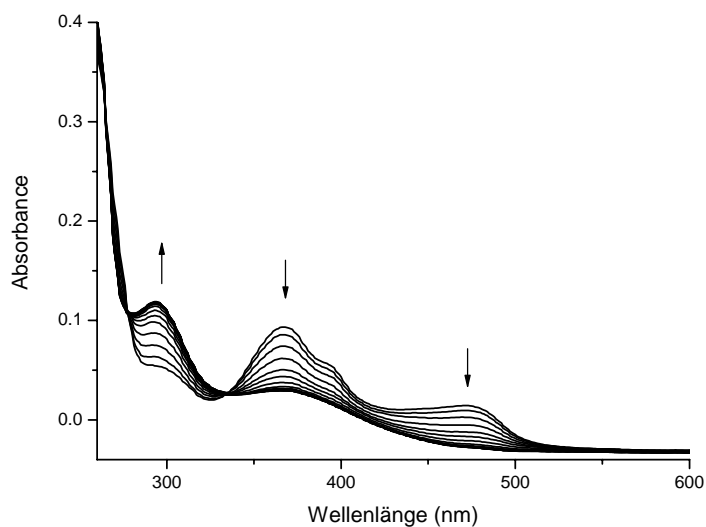


Abb. 3.5-3: Spektroelektrochemie von **38** in Methylenchlorid, 2.Prozess.

Die elektrochemischen Untersuchungen der Verbindung **48** weisen einen Einelektronenprozess (substituiertes N(3)) auf. (Abbildung 3.5-4)

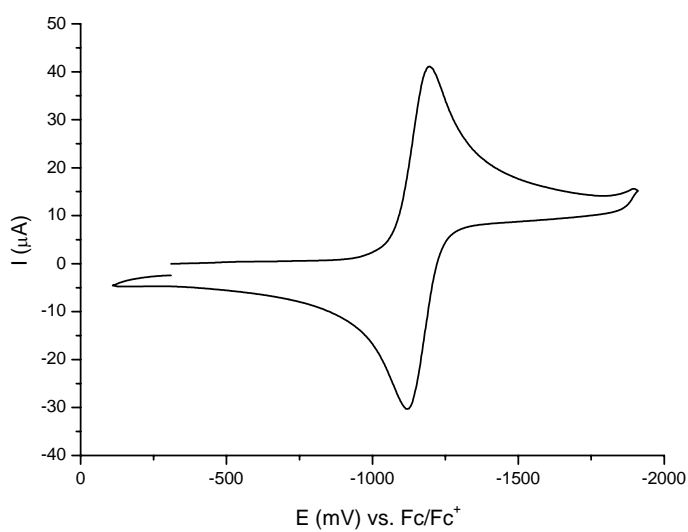


Abb. 3.5-4: Cyclovoltammogramm von **48** in Methylenchlorid, Vorschubgeschwindigkeit: 250mV/s, 0,1M TBAHFP.

Nach der ersten Reduktion wird das Flavinradikalanion generiert. (Abbildung 3.5-5)

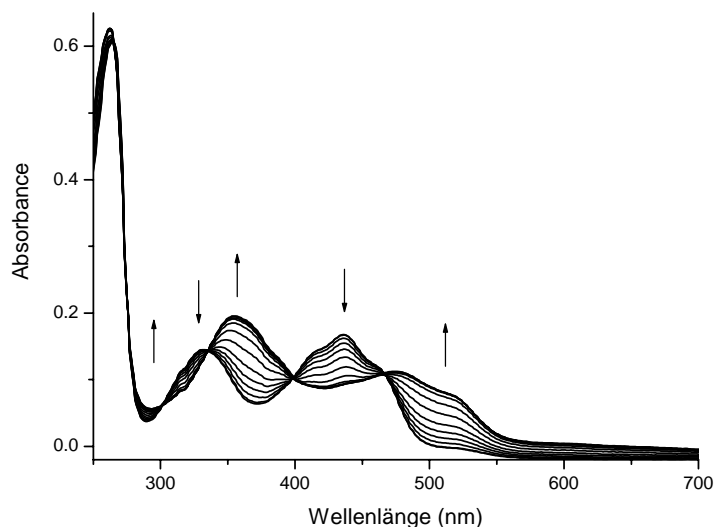


Abb. 3.5-5: Spektroelektrochemie von **48** in Methylenchlorid, 1. Prozess.

Aufgrund der Instabilität der Thiol-Flavine **39**, **41** und **44** mit ungeschützter Thiolgruppe (Abspaltung der Alkylkette) konnten die elektrochemischen Untersuchungen nicht durchgeführt werden.

3.6 Zusammenfassung

Die untersuchten Thiol-Flavine zeigen ein charakteristisches Flavinverhalten in der Absorptions- und Fluoreszenzspektroskopie, Cyclovoltammetrie und Spektroelektrochemie. Die Bestrahlung der Flavine mit geschützten Thiolgruppen (C57M-Mutant) führte zu irreversiblen Photoprodukten (Alkylierung an der N(5)-Position). Bei Flavinen mit unsubstituierter Thiolgruppe (Wildtyp) konnte keine photochemische Reaktion nachgewiesen werden. Dies ist wahrscheinlich dadurch bedingt, dass die Detektion langsamer als der Photozyklus ist. Unter basischen Bedingungen ergab sich ein ähnliches Absorptionsspektrum, wie vom Flavinradikalanion. Nach der Rückoxidation wurde das Ausgangsspektrum nicht erhalten. Dies könnte durch eine irreversible Reaktion unter Bildung von Disulfid erklärt werden.

Literaturverzeichnis

- [1] E. Liscum, W. R. Briggs, *Plant Cell* **1995**, 7, 473.
- [2] E. Huala, P. W. Oeller, E. Liscum, E. Han, I. S. Larsen, W. R. Briggs, *Science* **1997**, 278, 2120.
- [3] J. A. Jarillo, H. Gabrys, J. Capel, J. M. Alonso, J. R. Ecker, A. R. Cashmore, *Nature* **2001**, 410, 952.
- [4] T. Kagawa, T. Sakai, N. Suetsugu, K. Oikawa, S. Ishiguro, K. Kato, S. Tabata, K. Okada, M. Wada, *Science* **2001**, 291, 2138.
- [5] T. Sakai, H. Kagawa, M. Kasahara, T. E. Swartz, J. M. Christie, W. R. Briggs, M. Wada, K. Okada, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2001**, 98, 6969.
- [6] T. Kinoshita, M. Doi, N. Suetsugu, T. Kagawa, M. Wada, K. I. Shimazaki, *Nature* **2001**, 414, 656.
- [7] K. Moffat, S. Crosson, S. Rajagopal, *Biochemistry* **2003**, 42, 2.
- [8] T. E. Swartz, S. B. Corchnoy, J. M. Christie, J. W. Lewis, I. Szundi, W. R. Briggs, R. A. Bogomolni, *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 36493.
- [9] T. Kottke, J. Heberle, D. Hehn, B. Dick, P. Hegemann, *Biophys. J.* **2003**, 84, 1192.
- [10] T. Kottke, Diss. thesis, Universität Regensburg (Regensburg), **2003**.
- [11] F. Müller, *Chemistry and Biochemistry of Flavoenzymes.*, CRC Press, Boca Raton, FL, **1991**.
- [12] W. M. Moore, J. C. McDaniels, J. A. Hen, *Photochemistry and Photobiology* **1977**, 25, 505.
- [13] S. D. M. Islam, A. Penzkofer, P. Hegemann, *Chem. Phys.* **2003**, 291, 97.
- [14] M. Sakai, H. Takahashi, *J. Mol. Struct.* **1996**, 379, 9.
- [15] M. Fontecave, S. Ollagnier-de-Choudens, E. Mulliez, *Chem. Rev.* **2003**, 103, 2149.
- [16] E. L. Loechler, T. C. Hollocher, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 7312.
- [17] E. L. Loechler, T. C. Hollocher, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 7322.
- [18] E. L. Loechler, T. C. Hollocher, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 7328.
- [19] J. R. Cashman, Y. Liu, *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 2049.
- [20] P. S. Surdhar, D. A. Armstrong, *Can. J. Chem.* **1985**, 63, 3411.
- [21] F. Müller, *Chemistry and Biochemistry of Flavoenzymes, Vol. II*, CRC Press, Boston, **1991**.
- [22] J. M. Christie, M. Salomon, K. Nozue, M. Wada, W. R. Briggs, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1999**, 96, 8779.
- [23] M. Salomon, J. M. Christie, E. Knieb, U. Lempert, W. R. Briggs, *Biochemistry* **2000**, 39, 9401.
- [24] S. Crosson, K. Moffat, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2001**, 98, 2995.
- [25] M. Salomon, W. Eisenreich, H. Dürr, E. Schleicher, E. Knieb, V. Massey, W. Rüdiger, F. Müller, A. Bacher, G. Richter, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2001**, 98, 12357.
- [26] T. Iwata, S. Tokutomi, H. Kandori, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 11840.
- [27] M. Kasahara, T. E. Swartz, M. A. Olney, A. Onodera, N. Mochizuki, H. Fukuzawa, E. Asamizu, S. Tabata, H. Kanegae, M. Takano, J. M. Christie, A. Nagatani, W. R. Briggs, *Plant Physiology* **2002**, 129, 762.
- [28] W. R. Briggs, R. A. Bogomolni, S. B. Corchnoy, T. E. Swartz, J. W. Lewis, I. Szundi, *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 724.
- [29] K. Moffat, J. T. M. Kennis, S. Crosson, M. Gauden, I. H. M. van Stokkum, R. van Grondelle, *Biochemistry* **2003**, 42, 3385.
- [30] S. Weber, C. W. M. Kay, E. Schleicher, A. Kuppig, H. Hofner, W. Rüdiger, M. Schleicher, M. Fischer, A. Bacher, G. Richter, *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 10973.
- [31] J. T. M. Kennis, I. H. M. van Stokkum, S. Crosson, M. Gauden, K. Moffat, R. van Grondelle, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 4512.
- [32] S. Shinkai, S. Kawanabe, A. Kawase, T. Yamaguchi, O. Manabe, S. Harada, H. Nakamura, N. Kasai, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1988**, 61, 2095.
- [33] S. Shinkai, A. Kawase, T. Yamaguchi, O. Manabe, Y. Wada, F. Yoneda, Y. Ohta, K. Nishimoto, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 4928.
- [34] S. Shinkai, H. Nakao, I. Kuwahara, M. Miyamoto, T. Yamaguchi, O. Manabe, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1988**, 313.
- [35] E. M. Seward, R. B. Hopkins, W. Sauerer, S.-W. Tam, F. Diederich, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 1783.
- [36] Y. Kawai, J. Kunitomo, A. Ohno, *Acta Cryst.* **1997**, C53, 513.

- [37] Y. Kawai, J. Kunitomo, A. Ohno, *Acta Cryst.* **1998**, C54, 77.
- [38] S. Shinkai, H. Nakao, O. Manabe, *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 5183.
- [39] P. Hemmerich, S. Ghisla, U. Hartmann, F. Müller, *Liebigs Ann. Chem.* **1973**, 1388.

4 Flavindimere

4.1 Einführung

Dieser Teil der Doktorarbeit beschreibt optisch aktive Flavindimere* auf der Basis von Riboflavin. Die Motivation zur Untersuchung dieses Systems ist die Beobachtung einer langwelligen Absorption während der elektrochemischen Reduktion von 3-Methyl-2',3',4',5'-tetraacetylriboflavin **50**, welche auf eine Dimerisierung an der C(8 α)-Position zurückgeführt wurde.^[1] (Abbildung 4.1-1) Um diese Vermutung zu bestätigen, wurde dieses Dimer chemisch synthetisiert und sein Verhalten untersucht. Die chemisch bedingte Dimerisierung wurde in der Literatur vor einiger Zeit diskutiert, allerdings ist der Mechanismus noch unklar.^[2-5]

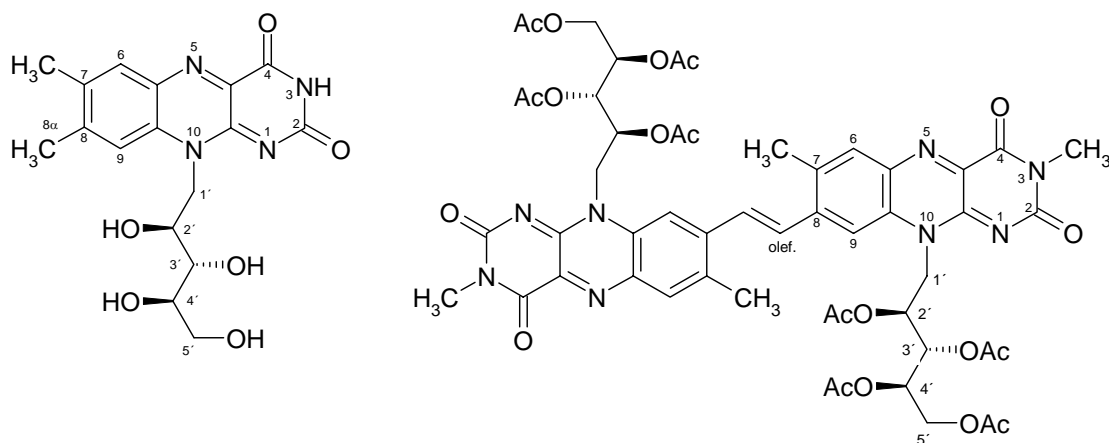


Abb. 4.1-1: Riboflavin (links) und Tetraacetylriboflavindimer (**52**, rechts).

Es stellt sich bei diesen dimeren Strukturen die Frage, ob die Isoalloxazineinheiten elektronisch miteinander koppeln oder sich die Chromophoreigenschaften lediglich additiv zusammensetzen. Weiterhin macht die Bifunktionalität den Aufbau von polymeren und supramolekularen Strukturen möglich. Die im Rahmen dieser Arbeit dargestellten Systeme werden anhand von ^1H -NMR-, MS- und HPLC-Experimenten

* In der vorliegenden Arbeit wird eine Abkürzung verwendet, obwohl sie nicht Nomenklaturregeln entspricht.

charakterisiert und durch Absorptions-, CD- und Fluoreszenzspektroskopie, Elektrochemie, Spektroelektrochemie sowie ESR (Elektronspinrezonanz) untersucht. Zum Vergleich können die spektroskopischen und elektrochemischen Eigenschaften des Flavins (Isoalloxazines) und des Stilbenes aufgrund der Strukturähnlichkeit zum Flavindimer **52** herangezogen werden.

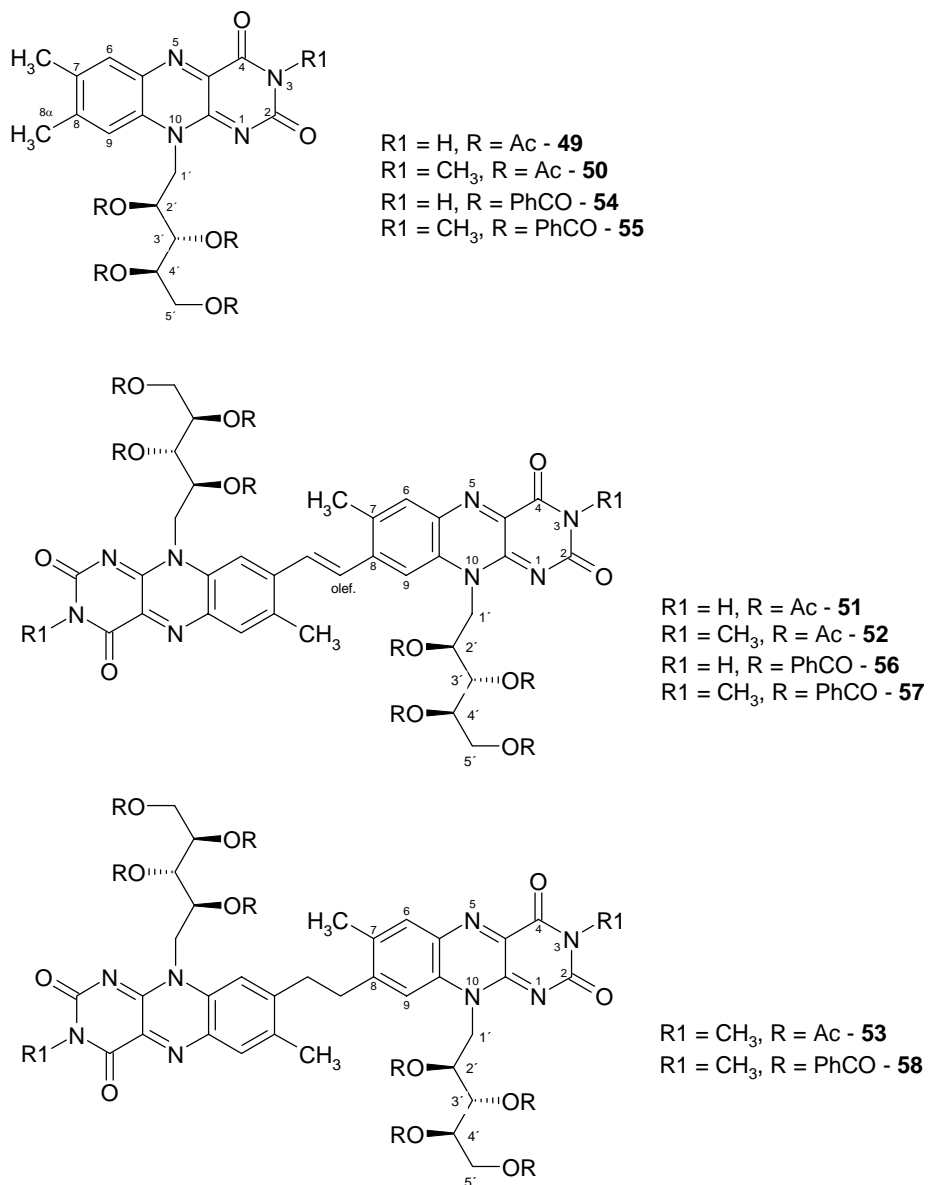


Abb. 4.1-2: Synthetisierte Flavinmonomere und -dimere.

4.1.1 Dimerenart

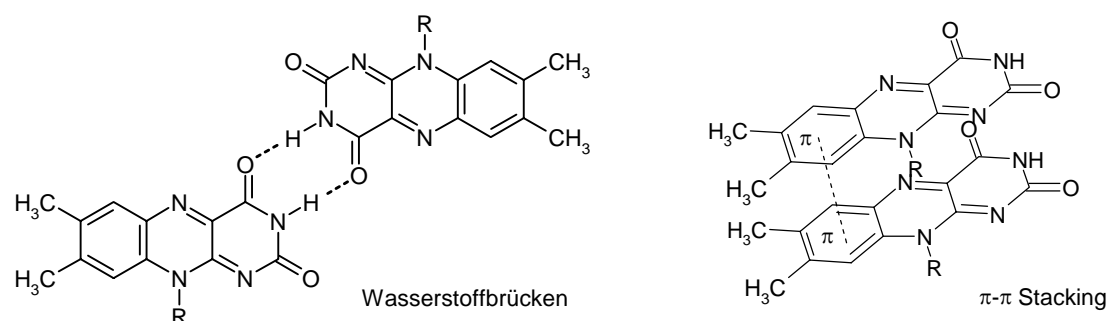
Unter dem Begriff Flavindimere werden in der Literatur folgende Systeme beschrieben:

a) Nicht kovalent gebundene Dimere entstehen durch π - π -Stacking oder durch Wasserstoffbrücken. Beim ersten Typ der Dimerisierung beträgt die Dimerisierungskonstante

des FMNs z.B. in Wasser $200 \text{ M}^{-1[6]}$, beim zweiten Bindungstyp ist die Konstante sehr gering.

b) Kovalent an der 3-, 8- oder 10-Position gebundene Dimere, welche abhängig von der Brückenstruktur in zwei Gruppen unterteilt werden können. Die Unterteilung erfolgt danach, ob die Brücke eine Kommunikation zwischen den Einheiten vermitteln kann oder nicht. Zu den Brücken, die die Kommunikation ermöglichen, zählen solche, die das konjugierte System vergrößern, wie z.B. eine Doppelbindung oder Aryle. Brücken, die keine Kommunikation vermitteln, stellen z.B. Alkylketten oder Cycloalkane dar.^[7-12] Als Flavindimere werden auch kondensierte mehrgliedrige Ringe mit zwei Flavinmotiven bezeichnet.^[13-15] (Abbildung 4.1-3)

Nicht kovalent gebundene Dimere



Kovalent gebundene Dimere

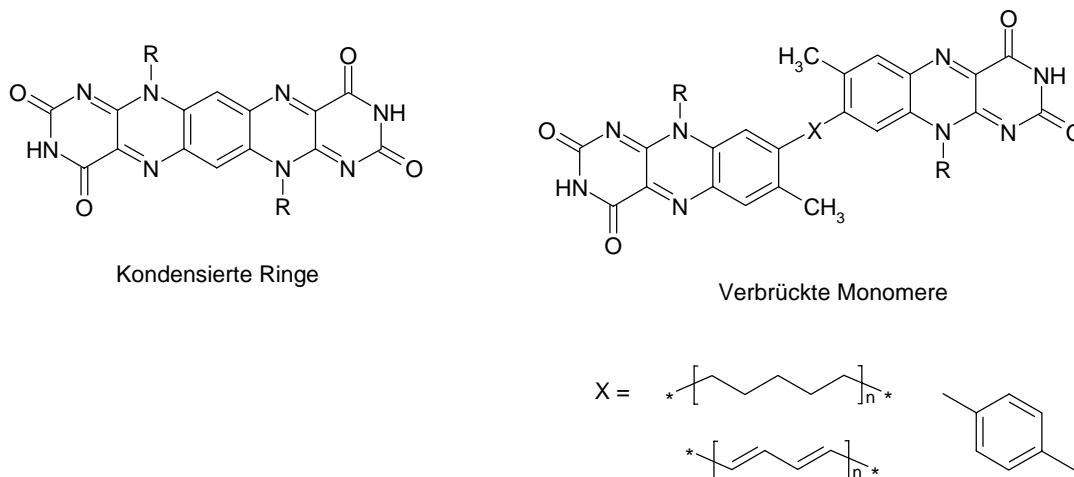


Abb. 4.1-3: Beispiele der bekannten Dimerstrukturen.

Später im Text werden die Verbindungen **51**, **52**, **53**, **56**, **57** und **58** als Flavindimere bezeichnet. Davon werden die Flavindimere, die als Brücke eine Doppelbindung beinhalten, als Ethen-Flavindimere **51**, **52**, **56**, **57** benannt, die restlichen **53** und **58** als Ethan-Flavindimere.

4.1.2 8 α -Position

Eine Unterklasse der Flavocoenzyme stellen mit Flavin (FAD, FMN) kovalent verknüpfte Coenzyme dar. Das Flavin ist mit dem Apoenzym an der 8 α -Position verknüpft. Die Reaktivität dieser Position lässt sich durch die Stabilisierung aufgrund des -M-Effektes des in para-Position vorhandenen Stickstoffatoms erklären. (Abbildung 4.1-4).

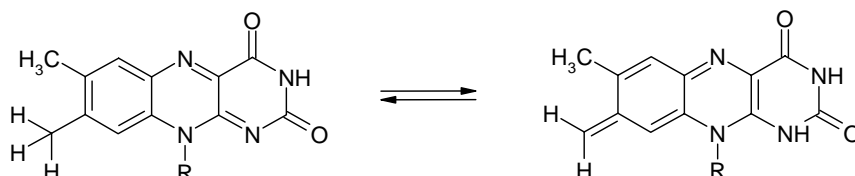


Abb. 4.1-4: Tautomerisierung von Isoalloxazin.

Die Verknüpfung an der 8 α -Position zwischen Isoalloxazin und einem Substrat ist in der Natur häufig vertreten. So sind Bindungen zum Stickstoff des Histidins (*Succinat-Dehydrogenase*), zum Schwefel des Cysteins, oder zum Sauerstoff des Tyrosins zu finden.^[16-28] Diese Bindungen werden nachträglich durch Substitution am 8 α -Methyl hergestellt. Aus biochemischer Sicht entsteht diese Bindung z.B. in *Monoamin-Oxidase A und B* (MAO A und B, Flavocoenzyme an der mitochondrialen Außenseite) folgendermaßen: Es wird eine Wasserstoffbindung von einer der Hydroxygruppen des FADs zum Asp227 und dadurch zum Apoenzym gebildet. Anschließend entsteht die kovalente Bindung zum Cys397.^[29, 30] Der Sinn dieser Verknüpfung wird in der Literatur zur Zeit heftig diskutiert. Es wurde festgestellt, dass die kovalente oder nicht kovalente Bindung die Funktion des Coenzymes nicht beeinflusst. So wurden die gleichen Coenzyme isoliert, die in verschiedenen Organismen entweder eine kovalente oder nicht kovalente Bindung zum Flavin besitzen und deren Funktion identisch ist. Beispielsweise besitzt *Cholesterol-Oxidase*, isoliert aus *Schiziphylum commune* eine kovalente Bindung über Histidin zum Flavin. Das gleiche Enzym isoliert aus *Streptomyces hygroscopicus* bindet das Flavin dagegen über nicht kovalente Wechselwirkungen.

Eine erste Vermutung für den Grund der kovalenten Bindung zum Flavin wäre eine stärkere Bindung zum Apoenzym im Gegensatz zum nicht kovalent gebundenen Flavin. Aber die publizierten Ergebnisse zeigen, dass die Bindung durch nicht kovalente Wechselwirkungen das Flavin genauso stark zum Apoenzym bindet. Das Flavinmolekül wird in diesem Fall vom Protein umhüllt. Die letzten Ergebnisse der Untersuchungen an *Mammalian-Aminoxidase* (MAO) zeigen, dass die Bindungsart eher mit der Konforma-

tionsstabilität des Coenzymes abhängig von der Umgebung, zusammenhängt.^[31] Außerdem hat das kovalent gebundene Flavin ein positiveres Potential als das durch nicht kovalente Wechselwirkungen gebundene. Damit kann es bei niedrigerem Potential vom Protein beeinflusst werden.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die 8 α -kovalente Bindung für die Stabilisierung der Apoenzymstruktur verantwortlich ist. Dem Flavin ist eine starre Position im Protein zuzuordnen, wodurch eine passende Anordnung zum Reaktionspartner im Protein gewährleistet ist.^[26] Letztendlich wird das Potential so geändert, dass Flavin mit einem größeren Elektronendefizit in der Katalyse auftritt.

4.1.3 Stilbensysteme

Im Vordergrund stehen die Flavindimere, in denen sich die Isoalloxazinringe gegenseitig beeinflussen. Solche Eigenschaften sind bei Ethen-Flavindimeren **51**, **52**, **56**, **57** zu finden. Sie sind durch eine Doppelbindung verbunden, die zu der Ausdehnung des π -Systems führt. Die Isoalloxazineinheiten dürfen nicht als zwei entkoppelte Subeinheiten gesehen werden, sondern als ein voll gekoppeltes System. Die Doppelbindung zwischen den Benzolringen der beiden Isoalloxazineinheiten hat strukturelle Ähnlichkeit mit Stilbenderivaten. Stilbene sind photochemisch aktive Verbindungen, die durch Lichtanregung unter anderem eine über verschiedene Mechanismen verlaufende cis-trans (E/Z-) Isomerisierung ausüben kann.^[32-36] Es ist durchaus möglich, dass eine photoinduzierte cis-trans Isomerisierung auch bei den Ethen-Flavindimeren auftreten kann und einen Konkurrenzprozess zu anderen photophysikalischen und -chemischen Prozessen am Flavin darstellt.

Die cis-trans Isomerisierung wird durch Licht, Radikalstarter, Enzyme oder elektronenziehende Gruppen an der Doppelbindung hervorgerufen und spielt eine sehr wichtige Rolle in vielen biochemischen Prozessen, wie z.B. im Sehprozess (Retinal).^[37] Die Kinetik der cis-trans Photoisomerisierung wird von Temperatur, Solvens, Druck, sowie vom Substituentenmuster stark beeinflusst. Sie findet sehr schnell statt, wie z.B. 60-450fs bei Stilben, beziehungsweise weniger als 200fs bei der primären Reaktion des Rhodopsins oder sehr langsam bis zu über 10ns bei Stilbendendrimeren mit Molmassen über 6000.

Ein besonderer photochemischer Reaktionsweg besteht für cis-Isomere in einem electrocyclischen Ringschluss.^[32, 38] Eine andere Möglichkeit für photoinduzierte cis-trans

Isomerisierung ist eine elektrochemische Isomerisierung bei heteroaromatischen Stilbenen (Phenothiazin-Anthrachinon push-pull-Systeme), die durch eine Einelektronoxidation erreicht wird.^[39, 40] Ein wichtiger Faktor dieses Prozesses ist die Elektronspindichte an den olefinischen C-Atomen.

4.1.4 Entkoppelte Systeme

Flavindimere **53** und **58**, die mit Alkylketten verbunden sind und damit keine elektronische Wechselwirkung „through bond“ vermitteln können, werden als Referenzverbindungen für die Untersuchungen der Flavindimere **51**, **52**, **56** und **57** angewendet. In der Literatur publizierte Röntgenstrukturen zeigen, dass Flavindimere mit flexibler Brücke eine planare Anordnung im Grundzustand bevorzugen.^[11] Aber es ist durchaus möglich, dass die Monomersubeinheiten sich unter geänderten Bedingungen (z.B. Reduktion, angeregter Zustand) „through space“ beeinflussen^[8], denn sie können um die einfache Bindung (Alkylkette) rotieren und ihre Geometrie ändern. (Abbildung 4.1-4)

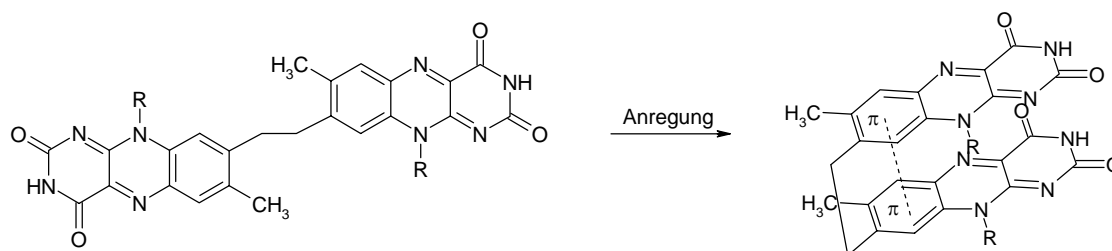


Abb. 4.1-4: Mögliche Geometrieänderung nach einer Anregung.

4.1.5 Supramolekulare Strukturen

In der Praxis werden verschiedene Wege bei Flavinen angewendet, um supramolekulare Strukturen aufzubauen. Die erste Möglichkeit sind Wasserstoffbrücken. Die Wasserstoffbrücken werden nach dem Donor-Akzeptor Prinzip gebildet, so dass zu einem Wasserstoffdonor ein Wasserstoffakzeptor komplementär ist. Das Isoalloxazinmolekül beinhaltet im Pyrimidinring ein komplexierungstaugliches Motiv, nämlich C(2)O, N(3)H und C(4)O (Watson-Crick side, A-D-A Motiv, *Abbildung 4.1-5, links*). Das Isoalloxazin kann dann mit einem Rezeptormolekül (Donor-Akzeptor oder Donor-Akzeptor-Donor, D-A bzw. D-A-D Motiv) eine Überstruktur formen.^[14, 41-50]

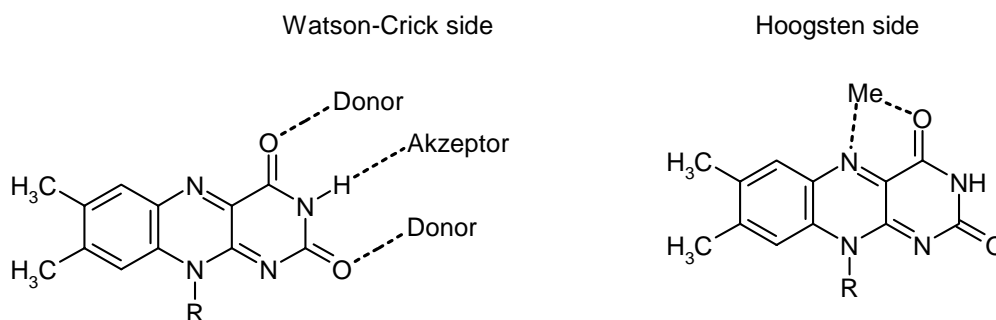


Abb. 4.1-5: Bindungsstellen an Isoalloxazingrundkörper-links: „Watson-Crick side“ – O(2)-N(3)-O(4); rechts: „Hoogsten side“ – O(4)-N(5).

Die zweite Möglichkeit ist die Metallkomplexierung. Dafür eignet sich die C(4)O, N(5) Stelle (Hoogsten side, *Abbildung 4.1-5, rechts*), die von den meisten Metallionen wie z.B. Ni²⁺, Cu²⁺, Ag⁺ u.a. bevorzugt wird.^[51-60] Eine Ausnahme ist Zn²⁺, das als Komplexbildungsstelle C(2)O vorzieht.^[61]

Die Komplexbildung kann in unterschiedlicher Stöchiometrie erfolgen. Das Isoalloxazin tritt als Ligand auf und wird im Verhältnis 1:1 (Ag⁺, Ru²⁺, Mg²⁺, Mn²⁺), 1:2 (Ag⁺, Cu⁺, Cu²⁺, Ni²⁺) oder 1:3 (Ni²⁺, Fe²⁺) gebunden. Es werden stabile Salze gebildet, die leicht zu handhaben sind.

Auch eine parallele Überlappung von π -Systemen (meistens Aromaten), bezeichnet als π - π -Stacking, führt zum Aufbau von übergeordneten Strukturen. Dieser Typ der Aggregation hat einen starken Einfluss auf die elektronischen Eigenschaften der einzelnen Moleküle. Durch die so genannte Excitonenwechselwirkung zwischen den einzelnen Chromophoren können drei verschiedene Prozesse beobachtet werden. Betrachtet werden die Übergangsdipolmomente einer starken Absorption. Bei einer hypsochromen Verschiebung der längstwelligen Absorptionsbande spricht man von H-Aggregation. In diesem Falle ergibt eine antiparallele Anordnung der Übergangsdipolmomente zwar eine elektrostatisch gesehen günstigere Ausrichtung und erfolgt damit bei geringerer Energie, besitzt aber kein effektives Übergangsdipolmoment und ist daher verboten. Dagegen ist der energetischere Übergang bei der parallelen Anordnung der Übergangsdipolmomente resultierend in ein effektives Übergangsdipolmoment erlaubt. Bei einer bathochromen Verschiebung spricht man von J-Aggregation.^[62] Hier zeigt sich, dass die erlaubte parallele Ausrichtung der Übergangsdipolmomente auch die energetisch günstigere Dipol-Dipol Wechselwirkung ergibt. Auch eine Aufspaltung der längstwelligen Absorptionsbande in eine längerwellige und eine kürzwellige Bande (ganz selten, z.B. Butadien) kann als Folge der Aggregation beobachtet werden. Bei dieser Anordnung

sind beide Übergänge erlaubt, das heißt, dass eine Verbreiterung der Absorption im Vergleich zum einzelnen Chromophor im Spektrum beobachtet wird. (Abbildung 4.1-6)

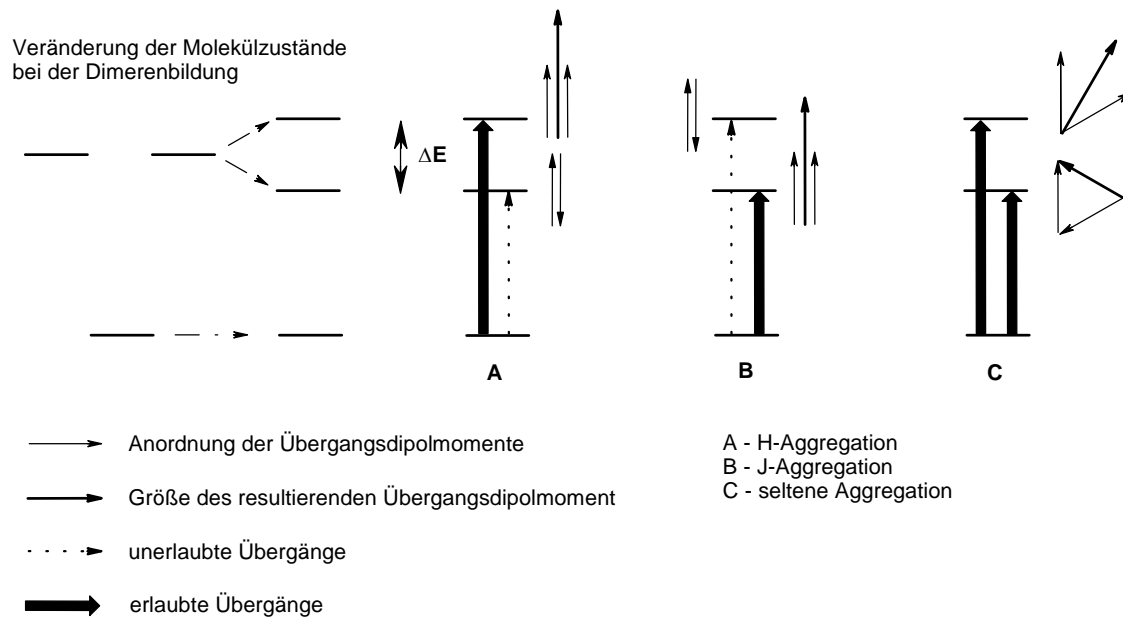


Abb. 4.1-6: Dimerenaufspaltung des $S_0 \rightarrow S_1$ -Überganges und die Darstellung der möglichen Übergänge.

Gleichung 4-1:

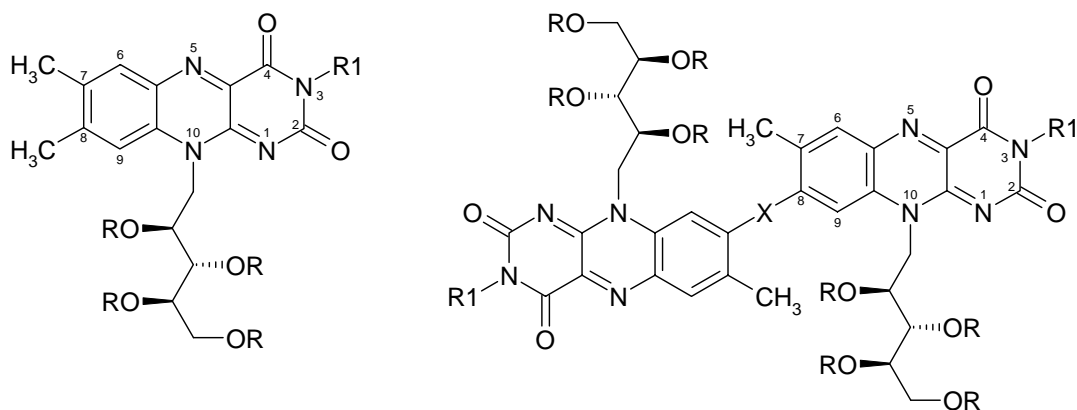
$$\Delta E = \frac{2|\mu|^2}{r^3} (\cos \alpha - 3 \cos^2 \beta) = 2V$$

Gleichung 4-1 beschreibt den Zusammenhang zwischen der Energiedifferenz ΔE (Davydov Aufspaltung) und der Anordnung der Übergangsdipolmomente. Die H-Aggregation hängt von der dritten Potenz des Abstands r zwischen den Zentren der Chromophore, vom Betragsquadrat des betrachteten Übergangsdipolmoment μ und der räumlichen Anordnung der wechselwirkenden Übergangsdipolmomente α und β ab. Bei J-Aggregaten sollte man demnach bei gleichen Chromophoren eine doppelt so große Energieaufspaltung zwischen erlaubtem und verbotem Übergang finden.

Die Aggregation kann durch diverse Prozesse hervorgerufen werden, z.B. durch Änderung der Polarität des Lösungsmittels, die Temperaturänderung oder durch eine wasserstoffbrückenkontrollierte Aggregation in Sol-Gel Systemen.^[63-66]

4.2 Synthese der Riboflavindimere

Das Grundkonzept für die hier synthetisierten und untersuchten Riboflavindimere basiert auf Arbeiten von *Hemmerich*^[2, 3], *Berezovskii*^[4] und *Raststetter*^[5], die bereits Studien an den Flavindimeren in den 60er und 80er Jahren durchführten. In *Tabelle 4.2-1* sind die synthetisierten Riboflavinderivate und Flavindimere abgebildet.



R1 = H, R = Ac – **49**

R1 = CH₃, R = Ac – **50**

R1 = H, R = PhCO – **54**

R1 = CH₃, R = PhCO – **55**

X : -CH=CH-, R1 = H, R = Ac – **51**

R1 = CH₃, R = Ac – **52**

X : -CH₂-CH₂-, R1 = CH₃, R = Ac – **53**

X : -CH=CH-, R1 = H, R = PhCO – **56**

R1 = CH₃, R = PhCO – **57**

X : -CH₂-CH₂-, R1 = CH₃, R = PhCO – **58**

Tabelle 4.2-1: Synthetisierte und untersuchte Substanzen.

4.2.1 Schützen der Hydroxygruppen des Riboflavins

Die Darstellung aller Flavindimere erfolgt ausgehend von enantiomerenreinem natürlichem Riboflavin. Die Hydroxygruppen des Ribitylrestes werden unter Verwendung von verschiedenen Säureanhydriden und Carboxysäuren verestert bzw. geschützt.^[17, 18, 22, 63, 67, 68] (*Abbildung 4.2-1*)

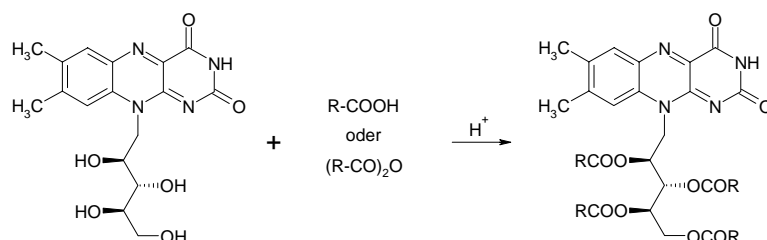


Abb. 4.2-1: Veresterung der Hydroxygruppen des Ribitylrestes.

4.2.2 Tautomerisierung

Riboflavin kann durch eine basisch bedingte Aktivierung der Methylgruppe in der 8-Position des Isoalloxazinringes zu einem Flavindimer umgesetzt werden. Diese Dimerisierung verläuft über einen oxidativen Prozess. Im ersten Schritt findet eine Tautomerisierung statt, die durch Basen, wie z.B. Kaliumcarbonat^[2], sowie einer ganzen Reihe organischer Phenolate oder Stickstoffbasen^[5, 69] katalysiert wird. (Abbildung 4.2-2) Als Zwischenprodukt entsteht nach 2h Refluxieren im abs., Stickstoff gesättigten DMF ein Quinonmethid Tautomer. Die Tautomerisierung erfolgt durch Protonabstraktion an der Methylgruppe an der C(8)-Position mittels der eingesetzten Base. Sie findet unter Ausschluss von Luft (Sauerstoff) und Feuchtigkeit statt. Die Bildung von Quinonmethid kann durch einen Farbumschlag von orange zu tief grün verfolgt werden. Die Neigung des Quinonmethides zu einem nukleophilen Angriff zeigt sich in der Reaktion mit Imidazol, deren Produkt ein kovalent gebundenes Imidazol über die 8-Position zu Isoalloxazin ist.^[5]

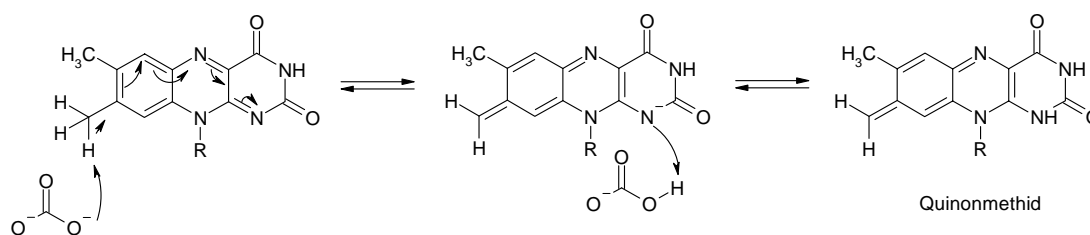


Abb. 4.2-2: Bildung von Quinonmethid Tautomer (hier mit CO_3^{2-} katalysiert).

4.2.3 Dimerisierung

Im zweiten Reaktionsschritt findet nach *Hemmerich* die eigentliche Dimerisierung statt. Produkte dieser Reaktion sind verschiedene Tautomere – Flavindimere, die im nächsten Schritt zu einem stabilen Hauptprodukt (quinoide Typ des Flavindimers) oxidiert werden. Als Oxidationsmittel wird entweder Wasserstoffperoxid und Perchlorsäure^[2] oder Sauerstoff^[5] verwendet. Durch diese Oxidation entsteht bevorzugt der quinoide Typ des Flavindimeres. (Abbildung 4.2-3)

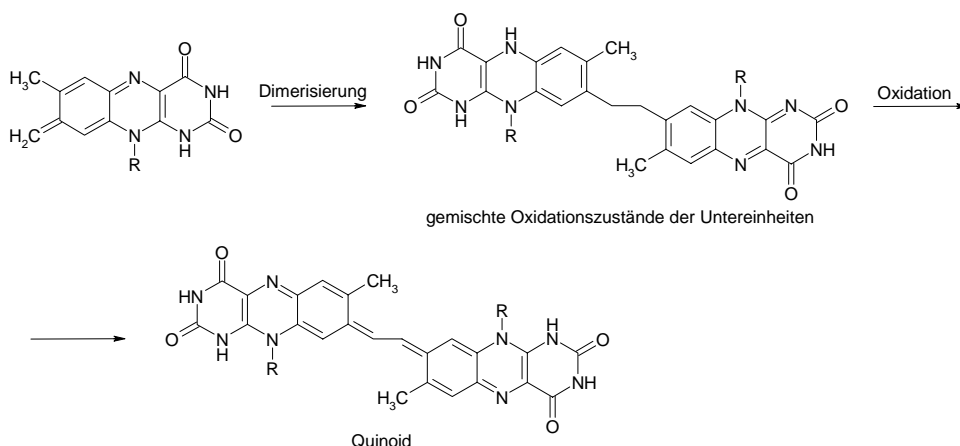


Abb. 4.2-3: Dimerisierung unter Bildung vom quinoiden Typ des Flavindimeres.

Es wurde postuliert, dass ein stilbenoider Typ des Flavindimeres (Ethen-Flavindimer) erst durch eine weitere Oxidation des quinoiden Typs entsteht, der aber an der Luft instabil ist, und zum quinoiden Typ zurückreduziert wird. Siehe *Abbildung 4.2-3*.

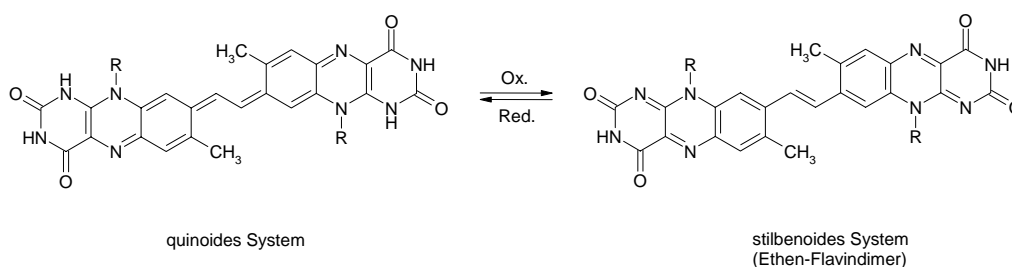


Abb. 4.2-4: Oxidation des quinoiden Typs zu einem stilbenoiden Typ des Flavindimeres.

4.2.4 Oxidation

Laut Literatur wird die tief grüne Reaktionslösung des Quinonmethides siedend heiß filtriert. Das Produkt bleibt als Rückstand auf dem Filterpapier und wird oxidiert. Als Oxidationsmittel verwendet *Hemmerich* Perchlorsäure und Wasserstoffperoxid. *Rastetter* lässt das Quinonmethid an Luft oxidieren, jedoch liegt die Ausbeute der Oxidation nur zwischen 10% und 29% und ist von der verwendeten Base stark abhängig. Darüber hinaus entstehen viele andere Oxidationsprodukte.

Um die Ausbeute der Reaktion zu erhöhen und eine unerwünschte Nebenproduktbildung zu vermeiden, wurden die Reaktionsbedingungen geändert. In der Literatur wird als Lösungsmittel mit Stickstoff gesättigtes absolutes DMF verwendet. In unserem Fall wurden die besten Ergebnisse in Dioxan erzielt, da in diesem Fall das Quinonmethid nicht als Feststoff ausfällt. Die Reaktionslösung bleibt homogen und die Oxidation kann ohne Isolierung des Zwischenprodukts anschließend durchgeführt werden. Die Reakti-

onszeit, in der sich das Quinonmethid bildet, lässt sich durch Verwendung von Cesiumcarbonat anstatt Kaliumcarbonat auf 30min. vermindern. Eine Erklärung dafür ist die bessere Löslichkeit des Cesiumcarbonates in organischen Lösemitteln.

Um Nebenprodukte zu unterdrücken wurden anstatt Perchlorsäure und Wasserstoffperoxid die milderen Oxidationsmittel Jod und DDQ verwendet. Die Gesamtausbeute von **56** bei Verwendung verschiedener Basen und Oxidationsmittel in Dioxan sind in *Tabelle 4.4-1* zusammengefasst. Beim Versuch eine Oxidation mit Br₂ durchzuführen, entstehen neben den Ethen-Flavindimeren **51** oder **56** viele Nebenprodukte und die Ausbeuten sinken auf 10%.

| <i>Base</i> | <i>Oxidationsmittel</i> | <i>Ausbeute</i> | <i>gesamte Reaktionszeit</i> |
|---------------------------------|-------------------------|-----------------|------------------------------|
| K ₂ CO ₃ | O ₂ | 10% | 18h |
| K ₂ CO ₃ | DDQ | 25% | 4h |
| K ₂ CO ₃ | I ₂ | 40% | 3h |
| Cs ₂ CO ₃ | I ₂ | 60% | 90min |
| Cs ₂ CO ₃ | Br ₂ | 10% | 90min |

Tabelle 4.4-1: Ausbeute und Reaktionszeit der Dimerisierung.

Rastetter und *Hemmerich* sind sich einig, dass ein quinoider Typ des Flavindimers oder seine Tautomere durch die Oxidation entstehen. Zur Darstellung eines stilbenoiden Typs des Flavindimeres ist eine weitere Oxidation erforderlich. *Raststetter* postuliert in seiner Arbeit einen weiteren Typ des Flavindimers (Ethan-Flavindimer). Es handelt sich um eine tautomere Form zum quinoiden Typ des Flavindimeres. (*Abbildung 4.2-5*)

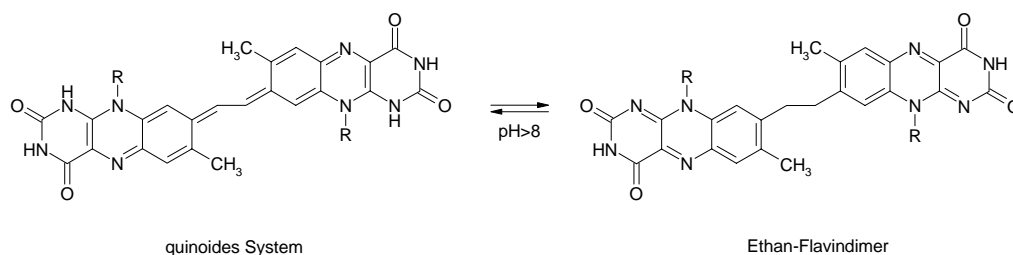


Abb. 4.2-5: Tautomerisierung vom quinoiden Typ des Flavindimeres zum Ethan-Flavindimer.

Wie schon *Raststetter* festgestellt hat, ist die Dimerisierungsreaktion von der verwendeten Base und dem pH abhängig. Bei Verwendung von heterozyklischen N-Oxiden entsteht ausschließlich der quinoid Typ des Flavindimers, Phenolate lassen das Ethan-flavindimer entstehen. Es kann vermutet werden, dass die Ausbeute vor allem von der Menge der verwendeten Base abhängt. Möglicherweise durch einen anionischen Mechanismus kommt es zu einem Angriff von einem deprotonierten Quinonmethid an ein

Quinonmethid. In *Abbildung 4.2-6* wird ein möglicher Mechanismus zur Bildung des Ethan-Flavindimers vorgeschlagen. Die Reaktion endet auf jener Stufe, bei der die Base in der stöchiometrischen Menge zugegeben und gleichzeitig ein milderes Oxidationsmittel verwendet wird.

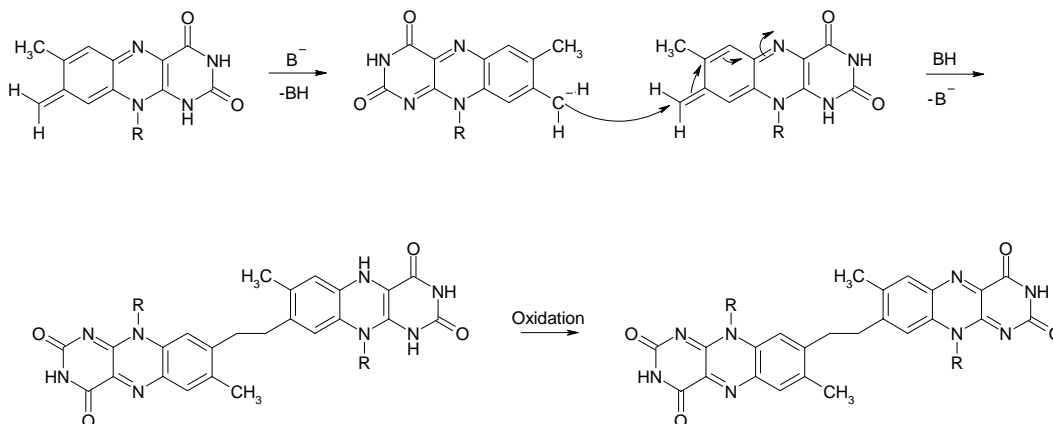


Abb. 4.2-6: Reaktionsmechanismus der Synthese Ethan-Flavindimer.

Ist mehr Base in der Reaktionsmischung vorhanden, reagiert das Ethan-Flavindimer weiter zu einer Spezies, die die Eigenschaften des von *Hemmerich*, *Berezovskii* und *Raststetter* beschriebenen quinoiden Typs des Flavindimers besitzt. Allerdings kann diese Spezies nicht weiter oxidiert werden. Dies spricht gegen einen quinoiden Typ und es ist zu vermuten, dass entgegen den bisher publizierten Ergebnissen ein stilbenoider Typ des Dimers direkt entsteht. Im Vergleich zum publizierten Mechanismus stellt der hier vorgeschlagene Weg der basisch katalysierten Reaktion einen klaren Reaktionsverlauf zur Darstellung des Ethen-Flavindimers dar. (*Abbildung 4.2-7*.)

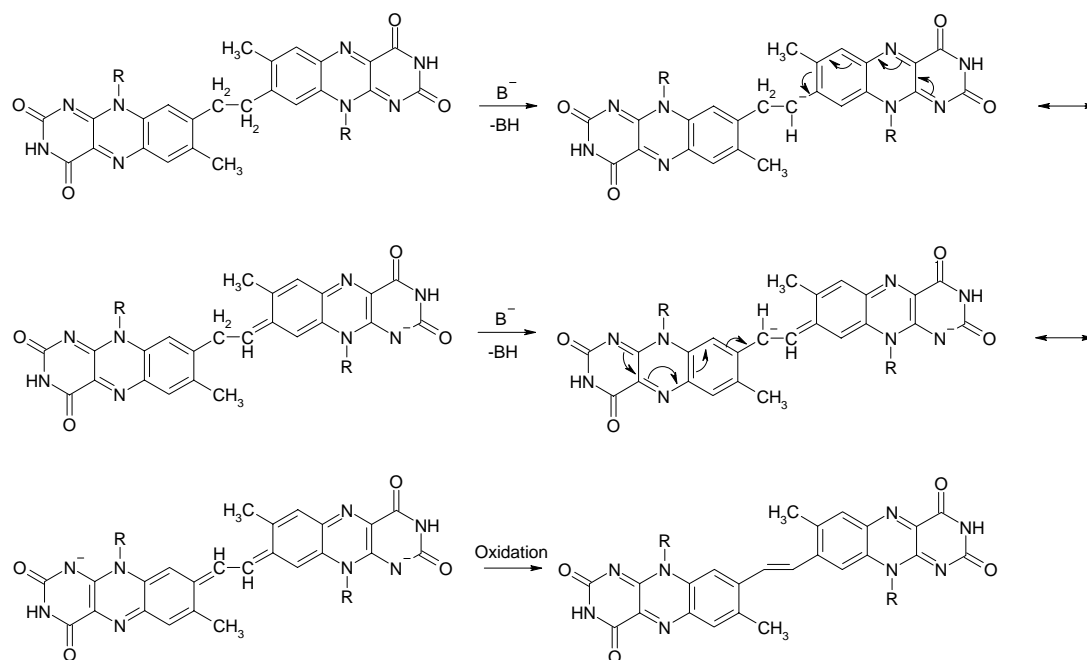


Abb. 4.2-7: Reaktionsmechanismus der Synthese Ethen-Flavindimer.

Anhand von ^1H - und ^{13}C -NMR-, HPLC- und MS-Experimenten wurden die neuen Spezies **51**, **52**, **56** und **57** charakterisiert. Mittels HPLC wurde festgestellt, dass beide methylierten Flavindimere **52** und **53** im Verhältnis 50% zu 38% entstanden sind. Das HPLC-MS-Experiment (ESI) zeigt, dass diese zwei Flavindimere sich eben um zwei Protonen (Ethan-Flavindimer **53** 1115m/z MH^+ , Ethen-Flavindimer **52** 1113m/z MH^+) unterscheiden. Damit wurde die Struktur des Flavindimers **52** als Ethen-Flavindimer bestätigt.

4.2.5 Substitution an der N(3)-Position

Um die Löslichkeit der Dimere zu verbessern, wurde die N(3)-Position mit Alkylhalogeniden umgesetzt. Die Alkylsubstitution verhindert das Entstehen einer supramolekularen Struktur durch Wasserstoffbrücken. (Abbildung 4.2-8)

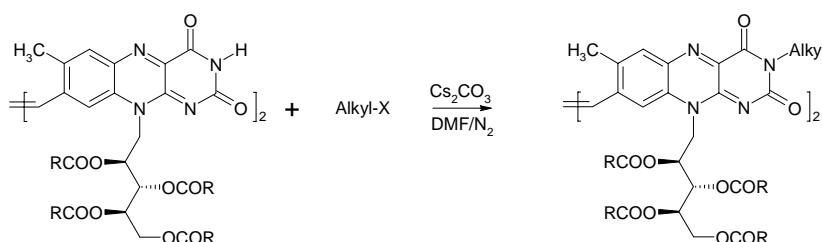


Abb. 4.2-8: Alkylierung am N(3).

4.3 NMR Spektroskopie der Flavindimere

4.3.1 Vergleich von Riboflavin und Flavindimeren

Im ^1H -NMR-Spektrum des Riboflavintetraacetates **49** (in CDCl_3) findet man Signale des NH-Protons bei 9,0 ppm, von C(6)H und C(9)H bei 8,2 und 7,2 ppm. Die Protonen des Ribitylrestes liegen bei 6,5 (C(2')H), 5,4 (C(3')H) und (C(4')H), 4,4 und 4,3 ppm (C(5')H). Die Protonen am C(1')H tauschen in CDCl_3 schnell aus und sind unter den Messbedingungen bei RT nicht erkennbar. Die beiden Methylgruppen des Riboflavins am C(7) und C(8) geben zwei Singulets bei 2,6 CH_3 (8) und 2,5 CH_3 (7) ppm. Die vier Methylgruppen der Acetylschutzgruppen zeigen vier Singulets zwischen 2,3 - 1,7 ppm. Ähnliche Verschiebungen liefert auch das Monomer **54** in CDCl_3 . Die Signale der Benzoylschutzgruppen befinden sich im Tieffeld des Spektrums.

Bei den Ethen-Flavindimeren **51**, **52**, **56**, **57** kann man auf den ersten Blick zwei Unterschiede im ^1H -NMR-Spektrum gegenüber den Spektren der Monomere **49** und **54** feststellen. Der Vergleich der Spektren von **49** und **51** in DMSO-d_6 zeigt, dass das Signal der CH_3 -Gruppe in der 8-Position (Monomerspektrum bei 2,5 ppm) verschwindet und ein neues Singulett bei 8,5 ppm entsteht, das dem Proton der entstandenen Doppelbindung zuzuordnen ist. Alle restlichen Signale bleiben unverändert oder sind nur leicht verschoben. In polaren aprotischen Lösungsmitteln, wie DMSO oder DMF findet man auch das fehlende Signal des Protons am C(1'). (*Abbildung 4.3-1*) Die Methylierung des Flavindimers **51** zum Flavindimer **52** erhöht die Löslichkeit in CDCl_3 , dagegen verschlechtert sich die Auflösung der Signale der Protonen des Ribitylrestes aufgrund der Säurereste im Lösungsmittel.

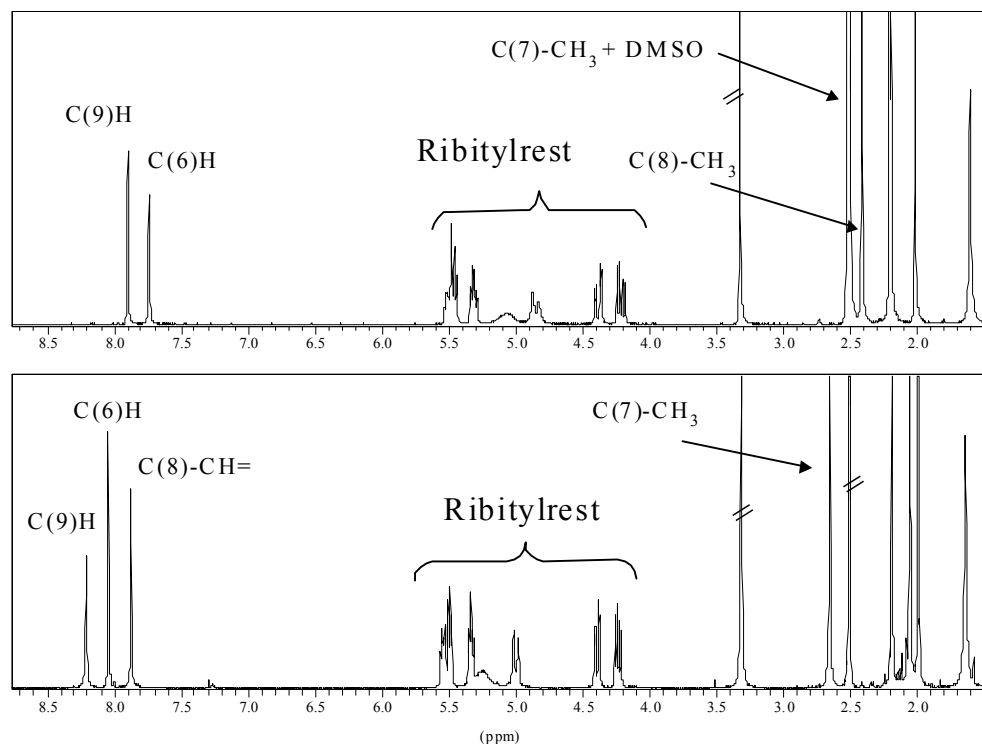


Abb. 4.3-1: ^1H -NMR-Spektrum von **49** (oben) und **51** (unten) in DMSO-d_6 .

Die von *Rastetter*^[5] und *Berezovskii*^[4] publizierten ^1H -NMR-Spektren der Flavindimere, die in DMSO bei 60MHz bzw. in D_2O bei 60MHz vermessen wurden, stimmen mit unseren Ergebnissen nicht überein. *Rastetter* setzt voraus, er habe anstatt des stilbenoiden Typs des Dimers den quinoiden Typ. Das fehlende Signal für N(1)-H begründet er mit einem schnellen Austausch und einer Überlagerung mit dem Signal von Wasser in DMSO. Bei NMR-Experimenten, die in verschiedenen Lösungsmitteln durchgeführt wurden, wurde dieses Signal nie aufgedeckt. Dies bestätigt die Vermutung, dass nicht der quinoide Typ des Dimeres, sondern der stilbenoide Typ vorliegt. Das wurde mittels Massenspektrometrie untermauert, denn das ESI-Experiment von **51** liefert einen m/z -Wert von 1085,4, der mit dem berechneten Wert der stilbenoider Struktur von **51** übereinstimmt.

Die ^1H -NMR-Spektren der Ethan-Flavindimer **53** und **58** unterscheiden sich sehr wenig von den Spektren der zugehörigen Monomere **49** und **54** in CDCl_3 . Im Spektrum von **53** verschwindet die CH_3 -Gruppe in der 8-Position, und es taucht eine neue CH_2 -Gruppe der Ethylenbrücke mit einer Verschiebung von 3,3ppm (in CDCl_3) auf. Die Multiplizität dieser Gruppe scheint ein Singulett zu sein, aber beim Vermessen mit einem empfindlicheren Gerät (400MHz) wird das Signal als $\text{H}_{\text{A}2\text{B}2}$ Kopplungsmuster aufgelöst. Der Rest ist mit dem Spektrum des Monomers **49** identisch. In *Abbildung 4.3-2* werden die

Spektren von Ethen-Flavindimer **52** und Ethan-Flavindimer **53** verglichen. Ein deutlicher Unterschied der Protonen an der 8-Position wird sowohl bezüglich Absorptionslage, als auch Feinstruktur beobachtet. Das von *Raststetter* publizierte NMR-Spektrum des Ethan-Flavindimers stimmt mit dem Spektrum von **53** überein.

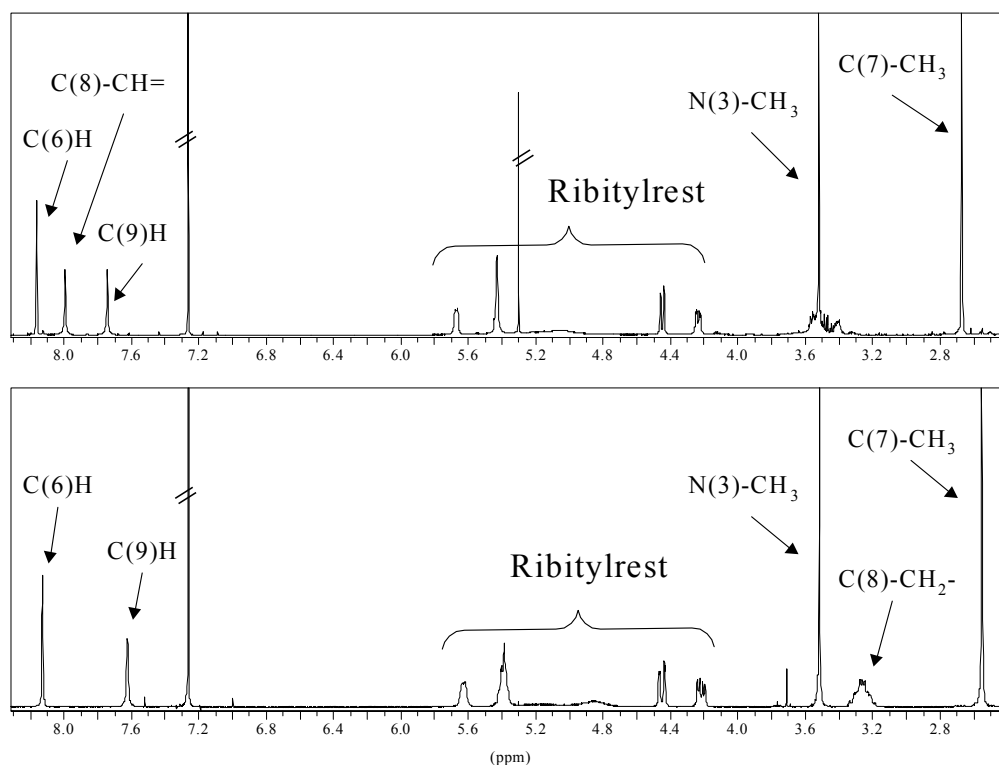


Abb. 4.3-2: ¹H-NMR-Spektrum von **52** (oben) und **53** (unten) in CDCl₃.

Beim Vergleich vom Monomerspektrum **54** und Dimerspektrum **56** sind bezüglich der Methylgruppe in 8-Position, die selben Erscheinungen wie bei **49** und **51** zu erwarten. Bei den benzoylgeschützten Flavinen **54** und **55** und Flavindimeren **56**, **57** und **58** erschwert die Überlappung der Benzoylprotonen mit den Protonen C(6), C(9) und C_{olef} die Interpretation des ¹H-NMR-Spektrums. Zur Strukturaufklärung wird deswegen die Durchführung der 2D-NMR-Experimente benötigt.

Benzoylgeschütztes Flavindimer **56** zeigt in CDCl₃ in Konzentration von 10mg in 1ml stark verbreitete Signale. Die Ursache liegt in der möglichen Aggregation des Moleküls durch Bildung von Wasserstoffbrücken. Zur Strukturbestimmung wurden die NMR-Spektren in der Konzentration von 1mg in 1ml CDCl₃ gemessen. Bei dieser Konzentration werden die Wasserstoffbrücken nicht ausgebildet. Ebenso wird dieser Prozess durch Methylierung des Flavindimers **57** an der N(3)-Position unterdrückt.

4.3.2 2D-NMR-Studien der Flavindimere

Zur Strukturbestimmung und Zuordnung der Signale der Flavindimere wurden verschiedene zweidimensionale NMR-Techniken angewendet: HSQC, HMBC, DQF-COSY und NOESY bzw. ROESY. Mit Hilfe dieser speziellen Techniken konnte die Struktur der Flavindimere bestimmt bzw. untermauert werden.

Die Auswertung der 2D-NMR-Spektren der acetylierten Derivate **49**, **50**, **51**, **52** und **53** fällt aufgrund der Verschiebung der Acetylprotonen leichter, als bei den Bezoylderivaten **54**, **55**, **56**, **57**, **58**. Im Tieffeld des ^1H -NMR-Spektrums findet man bei Flavindimer **53** zwei Signale von C(6)H und C(9)H und bei **51** und **52** die gleichen Signale mit einem zusätzlichen Signal von $\text{C}_{\text{olef}}\text{H}$. (Siehe *Abbildungen 4.3-1 und 4.3-2*)

Mittels der (H,H)-COSY-Technik werden die NMR-Spektren gemessen, bei denen auf beiden Frequenzachsen ^1H -chemische Verschiebungen miteinander korreliert sind. Man erhält die so genannten Diagonal- und Kreuzsignale. Die Diagonalsignale sind den Interaktionen der gleichen Protonen zuzuordnen.^[70] Die Kreuzsignale treten immer dann auf, wenn zwei Protonen eine skalare Kopplung (durch die Bindung) miteinander aufweisen.

In (H,H)-COSY-Spektren der Ethen-Flavindimere wird nach den Kreuzsignalen der $\text{C}_{\text{olef}}\text{H}$ gesucht, um die Struktur der Ethen-Flavindimere zu bestätigen.

Aufgrund der sehr schwachen Kopplung zwischen der C(7)-Methylgruppe mit $\text{C}_{\text{olef}}\text{H}$, ist das Kreuzsignal in diesem Spektrum nicht zu sehen. Wenn man das Spektrum aber ein „Level tiefer“ anschaut, findet man auch diese Kopplung. Zusätzlich liefert das (H, H)-COSY-Spektrum von **52** in CDCl_3 eine Kopplung der C(7)-Methylgruppe mit den benachbarten aromatischen Protonen C(6)H und C(9)H (*Abbildung 4.3-3*) und eine starke Kopplung der Protonen im Ribitylrest. (*Abbildung 4.3-4*)

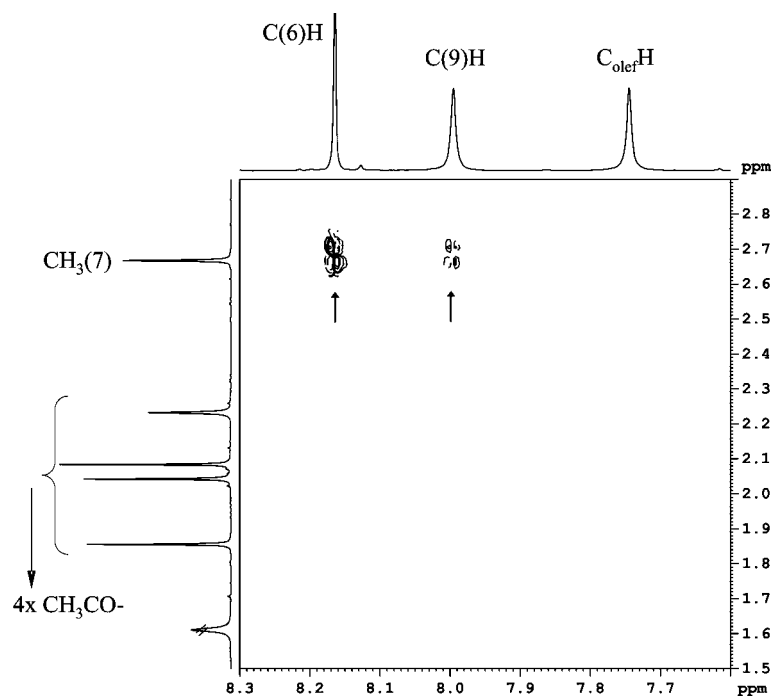


Abb. 4.3-3: (H,H)-COSY-Spektrum von **52** in CDCl_3 ; Kopplungen zwischen C(7)-Methylgruppe und aromatischen Protonen und olefinischem C(8)-CH.

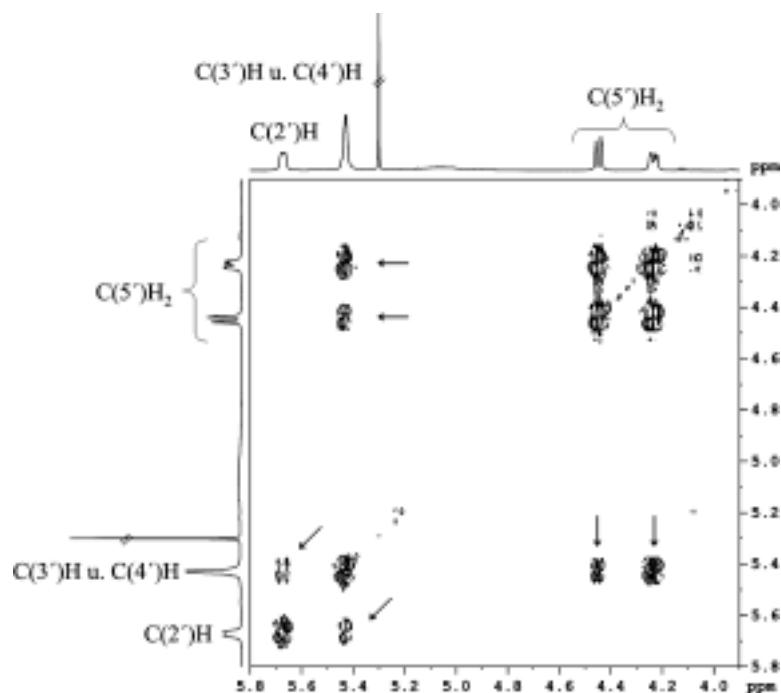


Abb. 4.3-4: (H,H)-COSY-Spektrum von **52** in CDCl_3 ; Kopplungen im Ribitylrest.

Bei den Ethan-Flavindimeren **53** und **58** werden die Kopplungen der CH₂-Gruppe an der 8-Position verfolgt. Das (H,H)-COSY-Spektrum von **53** in CDCl₃ liefert identische Kopplungen bezüglich des Ribitylrestes wie bei **52**. Die Kopplungen der C(7)-Methylgruppe mit den benachbarten aromatischen Protonen C(6)H und C(9)H sind genauso ausgeprägt, wie im vorherigen Fall. Die Kopplung zwischen der C(7)-Methylgruppe mit CH₂-Gruppe ist wieder schwach und man sieht sie nur ein „Level tiefer“.

Die NOESY- bzw. ROESY-Spektren basieren auf dem NOE-Effekt (Nuclear Overhauser Effect) und entstehen durch eine räumliche Interaktion miteinander korrelierender Protonen im Abstand bis zu 4 Å. Anstatt der skalaren Kopplungen überwiegen hier dipolare Kopplungen (durch den Raum). Die Kopplungen geben Hinweise auf die mittlere Konformation eines Moleküls in Lösung.

Im ROESY-Spektrum von **52** in CDCl₃ sind starke Kopplungen zwischen der C(7)-Methylgruppe und den benachbarten aromatischen Protonen C(6)H, C(9)H, sowie mit dem olefinischen C_{olef}H erkennbar. Aufgrund der freien Beweglichkeit der Ribitylkette und wegen des geringen Abstands zwischen C(9)H, C_{olef}H und den Methylgruppen der Acetylgruppen an C(2') und C(3') findet man auch die zugehörigen Kreuzsignale dieser Interaktionen. (Abbildung 4.3-5)

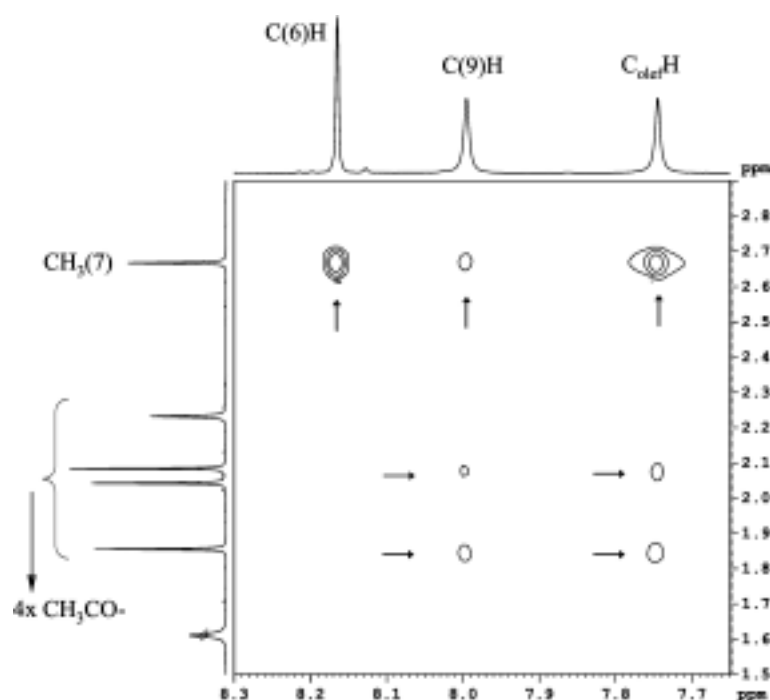


Abb. 4.3-5: ROESY-Spektrum von **52** in CDCl₃; Kopplungen im Raum zwischen C(7)-Methylgruppe und aromatischen Protonen, olefinischem C_{olef}H und Acetylen an C(2') und C(3').

Die gleiche Messung liefert die NOE-Signale der Protonen im Ribitylrest untereinander, die NOE-Signale der Protonen an C(2') und C(3') mit C(9)H und C_{olef}H, sowie die NOE-Signale der C(6)H, C(9)H und C_{olef}H miteinander. (Abbildung 4.3-6)

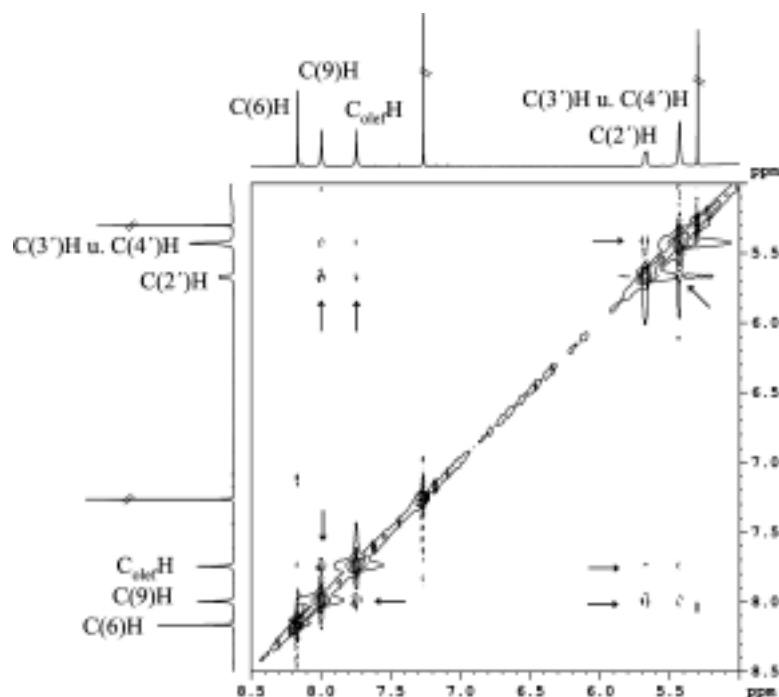


Abb. 4.3-6: ROESY-Spektrum von **52** in CDCl₃; Kopplungen im Raum zwischen Ribitylrest, aromatischen Protonen und olefinischem C_{olef}H.

Zur Strukturbestimmung von Ethan-Flavindimeren **53** und **58** wurde auch hier die NOE-Technik angewendet. Das ROESY-Spektrum von **53** in CDCl₃ zeigt die NOE-Signale im Ribitylrest, die NOE-Signale der Methylgruppe und der CH₂-Gruppe an der 8-Position, sowie die NOE-Signale der aromatischen Protonen C(6)H und C(9)H. (Abbildung 4.3-7)

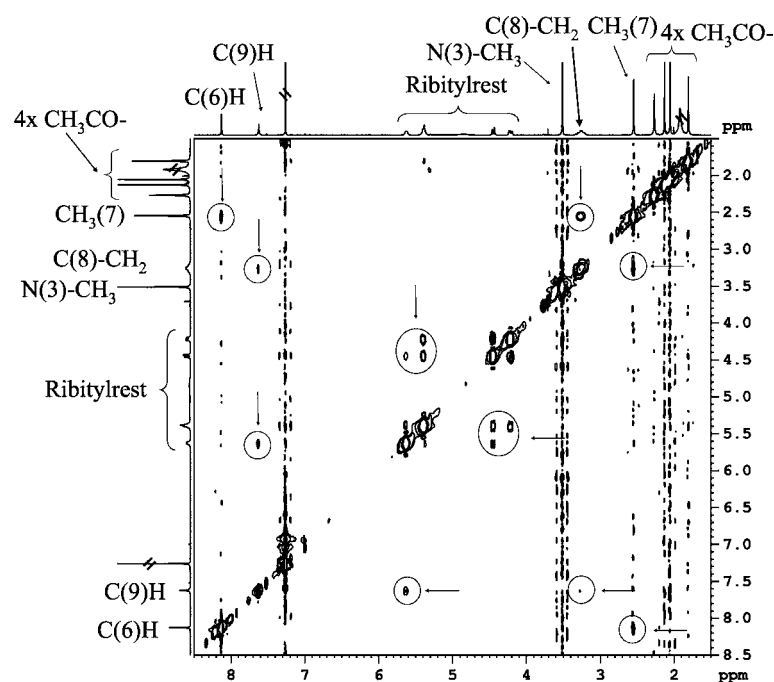


Abb. 4.3-7: ROESY-Spektrum von **53** in CDCl_3 ; Kopplungen im Raum zwischen Ribitylrest, aromatischen Protonen und olefinischem $\text{C}_{\text{olef}}\text{H}$.

Die 2D-NMR-Spektren der Benzoylderivate **56**, **57**, **58** sind aufgrund der Überlappung der Signale der aromatischen Protonen des Isoalloxazins und der Phenyle erschwert. Zur Unterscheidung wurde die HSQC-Technik angewendet. Dabei handelt es sich um die Detektion inverser heteronuklearer Spin-Spin-Interaktionen der Protonen mit den Kohlenstoffen. Im HSQC-Spektrum von **51** in DMSO-d_6 ergeben sich die Kopplungen der Kohlenstoffe mit den zugehörigen Protonen. So wurden die Verschiebungen der aromatischen Protonen C(6) und C(9) und des olefinischen Protons $\text{C}_{\text{olef}}\text{H}$ bestimmt. (Abbildung 4.3-8, links) Das HSQC-Spektrum von **53** in CDCl_3 liefert ebenfalls die Verschiebungen der aromatischen Protonen C(6) und C(9) und des Protons an der CH_2 -Gruppe.

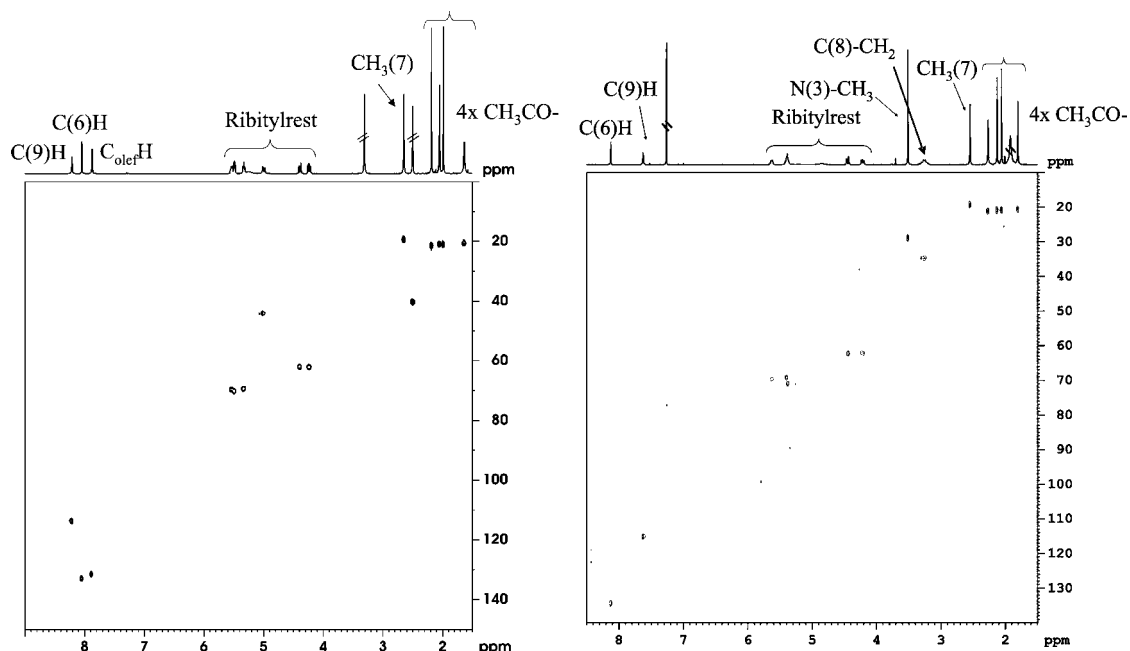


Abb. 4.3-8: HSQC-Spektrum von **51** in DMSO- d_6 (links), von **53** in $CDCl_3$ (rechts); Kopplungen zwischen Protonen (x-Achse) und zugehörigen Kohlenstoffe (y-Achse).

Da bekannt ist, dass sich die Verschiebungen der Kohlenstoffe C(9), C(6) und C_{olef} im ^{13}C -NMR-Spektrum in verschiedenen Lösungsmitteln nur wenig ändern und keine Überlappung mit den Signalen der Benzoylgruppe auftritt, konnten die zugehörigen Protonen der Flavindimere **56**, **57** und **58** durch die Korrelation mit dem 1H -NMR-Spektrum den Kohlenstoffatomen C(9), C(6) und C_{olef} zugeordnet werden. Diese Zuordnung wurde für die Interpretation der (H,H)-COSY- und ROESY-Spektren übernommen. (Tabelle 4.3-1)

| Verbindung | Lösungsmittel | $\delta_{C(6)}$ (ppm) | $\delta_{C(9)}$ (ppm) | $\delta_{C_{olef}}$ (ppm) |
|------------|---------------|-----------------------|-----------------------|---------------------------|
| 51 | DMSO- d_6 | 134,1 | 112,5 | 132,2 |
| 52 | $CDCl_3$ | 134,0 | 111,4 | 131,9 |
| 56 | DMF- d_7 | 133,5 | 113,6 | 131,4 |
| 57 | $CDCl_3$ | 134,0 | 111,4 | 131,5 |
| 53 | $CDCl_3$ | 134,1 | 115,0 | 34,6 ^{a)} |
| 58 | $CDCl_3$ | 134,0 | 115,1 | 34,4 ^{a)} |

a) CH_2 am C(8)

Tab. 4.3-1: Chemische Verschiebungen der Kohlenstoffe C(9), C(6), C_{olef} und C am C(8)

Anschließend ist zu bemerken, dass mittels der angewendeten NMR-Techniken die Strukturformeln der Ethan- und Ethen-flavindimere gelöst wurden.

4.4 Absorptionsspektroskopie und Circular dichroismus der Flavindimere

4.4.1 Absorptionsspektroskopie

Die Absorptionsspektren der Ethan- und Ethen-Flavindimere **51**, **52**, **53**, **56**, **57** und **58** sind durch eine starke Absorption im Bereich von 360 bis 520nm geprägt. (Abbildung 4.4-1)

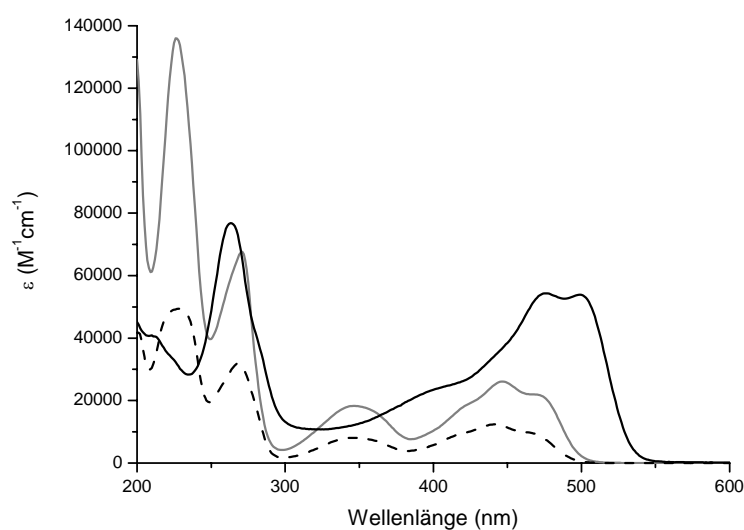


Abb. 4.4-1: Absorptionsspektrum von **54** (---), **56** (voll, schwarz) und **58** (voll, grau) in Acetonitril.

Im Gegensatz zu Absorptionsspektren der Monomere **49** bzw. **54** ist das Absorptionsmaximum der Ethen-Flavindimere deutlich bathochrom verschoben und der ϵ -Wert (**56** in Acetonitril, 497nm, $53834\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) beträgt das Vierfache des ϵ -Wertes des Monomers (**54** in Acetonitril, 441nm, $12370\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Dies wird aufgrund der doppelten Anzahl der Isoalloxazine und der Vergrößerung des konjugierten Systems verursacht. Die spektroskopischen Eigenschaften der untersuchten Verbindungen sind in *Tabelle 4.4-1* zusammengefasst.

| Verbindung | Lösungsmittel | λ (nm) / ε ($M^{-1}cm^{-1}$) |
|------------|---------------------|---|
| 49 | ACN | 466, 441(11996), 415, 344, 268(30819), 222(34840) |
| | MeOH | 469, 443(26940), 414, 349, 268(72086) |
| | MC | 470, 445(16054), 422, 348, 270(42417) |
| | THF | 467, 441(12398), 418, 337, 270 (34607) |
| | Toluol | 496, 444(7452), 421, 338 |
| 51 | ACN ^b | 563sh, 496, 475, 435, 389, 263, 222 |
| | MeOH ^b | 566sh, 496, 485, 447, 406, 264 |
| | MC ^b | 564sh, 504, 483, 450, 405, 268 |
| | THF ^b | 500sh, 473, 439, 394, 266 |
| | Toluol ^a | - |
| 52 | ACN | 499(46655), 477(46956), 438, 398, 264(69101), 222sh |
| | MeOH | 499(61735), 483(61658), 445, 406, 264(90220) |
| | MC | 505(75477), 482(75222), 450, 405, 266(122908) |
| | THF | 498sh (45314), 476(48330), 441, 397, 265(87110) |
| | Toluol | 505(42866), 481(45368), 447, 399 |
| 53 | ACN | 471, 446(26877), 420, 345, 270(71216), 225(67427) |
| | MeOH | 474, 447(36276), 421, 3530, 270(104446) |
| | MC | 476, 450(26562), 425, 346, 273(82806) |
| | THF | 474, 446(24587), 422, 337, 272(84663) |
| | Toluol | 473, 447(18760), 423, 338 |
| 54 | ACN | 469, 441(12370), 419, 346, 268(31901), 229(49430) |
| | MeOH | 472, 444(12445), 419, 356, 269(33921) |
| | MC | 475, 446(16286), 420, 350, 270(46550) |
| | THF | 467, 441(12236), 416, 337, 271(39051) |
| | Toluol | 469, 443(12908), 421, 342 |
| 56 | ACN | 497(53834), 477(54341), 443, 395, 265(85011), 229(163206) |
| | MeOH | 502(49167), 485(49800), 456sh, 411 |
| | MC | 512(51623), 487(50495), 449, 410, 267(129862) |
| | THF | 502(45401), 478(48142), 438, 392 |
| | Toluol | 557, 511(50696), 482(49279), 442sh, 400 |
| 57 | ACN | 498(53487), 479(54005), 443, 396, 265(84999), 228(160265) |
| | MeOH | 507(48128), 487(48429), 452sh, 417 |
| | MC | 514(50785), 487(49747), 449, 411, 268(86554) |
| | THF | 503(56181), 479(59115), 442, 396 |
| | Toluol | 511(50284), 483(50697), 448sh, 405 |
| 58 | ACN | 473, 447(26075), 421, 346, 271(67618), 226(135947) |
| | MeOH | 474, 449(22073), 424, 355 |
| | MC | 477, 450(28304), 424, 349, 273(87601) |
| | THF | 469, 445(22460), 422, 343, 272(66893) |
| | Toluol | 474, 448(27376), 424, 343 |

(a)-unlöslich, (b) ε konnte nicht bestimmt werden, sh-Schulter

Tabelle 4.6-1: Absorptionsmaxima der Flavinmonomere und -dimere.

Die Absorptionsspektren der Ethan-Flavindimere **53** und **58** entsprechen den Absorptionsspektren der Monomere. Wegen der zwei Isoalloxazineinheiten bei den Ethan-Flavindimeren, verdoppelt sich auch erwartungsgemäß der ϵ -Wert (**58** in Acetonitril, 447nm, $26075\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Davon kann man ableiten, dass die Isoalloxazineinheiten im Dimer durch die Ethanbrücke entkoppelt sind und sich nicht beeinflussen. (Abbildung 4.4-2)

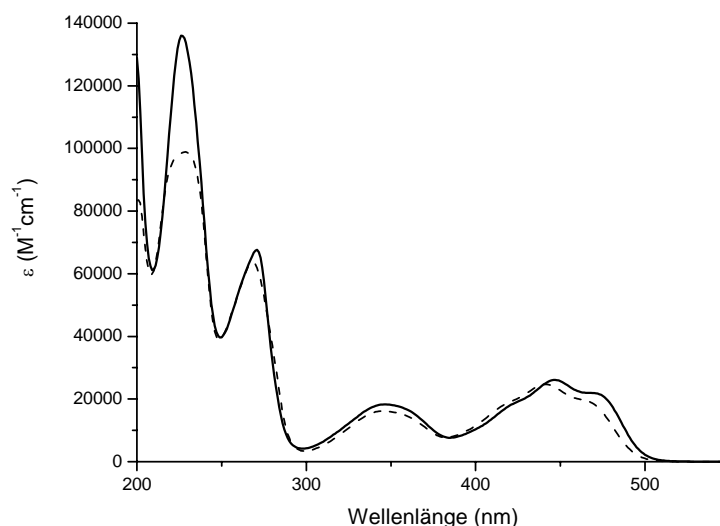


Abb. 4.4-2: Absorptionsspektrum von **54** (---, $\epsilon/2$) und **58** (voll) in Acetonitril.

Es wird aus den Ergebnissen der Absorptionsmessungen offensichtlich, dass das Lösungsmittel keinen großen Einfluss auf die Position des Absorptionsmaximums hat. Lediglich die Form des Maximums (zwei Peaks aufgelöst oder Schulter) im Bereich von 480 bis 515 nm ändert sich leicht. Die Alkylierung an der N(3)-Position und die Ribitylschutzgruppen haben gleichfalls keinen Einfluss auf λ_{max} .

Der Vergleich der Spektren von **56**, zeigt keine gravierende Lösungsmittelabhängigkeit der Lage der Maxima, sondern lediglich einen leichten Unterschied in der Form der vibronischen Strukturen. Es ist zu bemerken, dass sich im Spektrum von **56** in Toluol eine zusätzliche Bande mit einem Maximum bei 557nm befindet. Diese neue Bande kann, wie in Kapitel 4.8.3 noch diskutiert wird, Aggregationsphänomenen zugeordnet werden. (Abbildung 4.4-3)

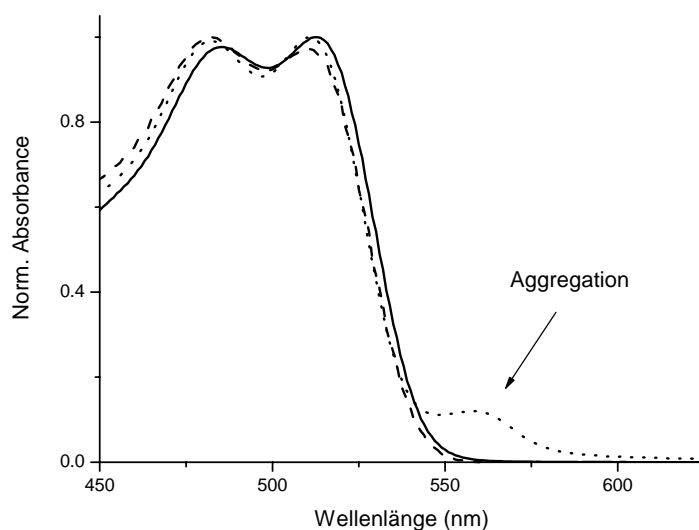


Abb. 4.4-3: Normierte Absorptionsspektren von **56** in Methylenchlorid (voll), Toluol (...) und Acetonitril (---).

Die vibronischen Strukturen (Übergänge) lassen sich durch Fitten von überlagerten Gaußkurven bestimmen. Die Maxima der Gaußkurven liegen bei 25139cm^{-1} ($397,8\text{nm}$), 21736cm^{-1} ($460,1\text{nm}$), 20416cm^{-1} ($489,8\text{nm}$) und 19293cm^{-1} ($518,3\text{nm}$) in Methylenchlorid. Für die Zuordnung der Maxima gibt es mehrere Erklärungen: Maxima 1, 2, 3 gehören dem $S_0 \rightarrow S_1$ -Übergang an und zeigen eine vibronische Feinstruktur (s. Flavin) oder Maxima 1 und 2 sind einem aufgespalteten $S_0 \rightarrow S_1$ -Übergang zuzuordnen, der durch die Überlappung der Übergangsdipolmomente der Untereinheiten entsteht. (Abbildung 4.4-4) Gegenwärtige Untersuchungen im Bereich der Tieftemperaturspektroskopie sollen tiefere Einblicke geben.

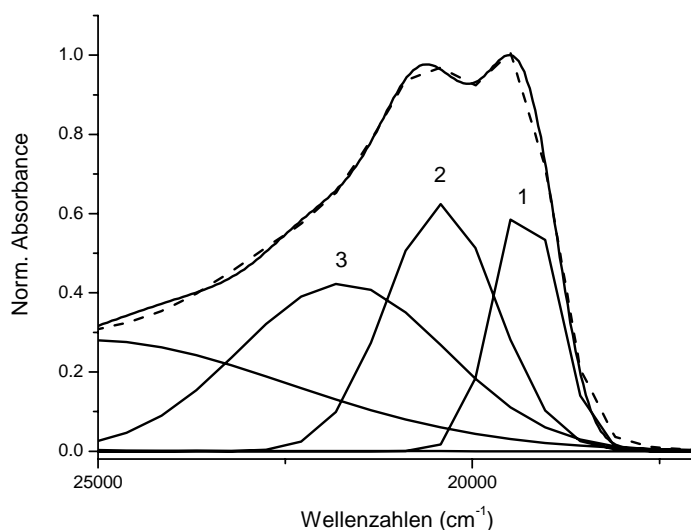


Abb. 4.4-4: Absorptionsspektrum von **56** in Methylenchlorid (voll) $c = 4,9 \cdot 10^{-6} \text{M}$, separiert in Gaußskurven (untere Linien) und von Gaußskurven zusammengesetztes Spektrum (---).

4.4.2 Circulardichroismus

Der Circulardichroismus (CD) ist eine Methode zur Messung der optischen Aktivität chiraler Moleküle mittels optischer Spektroskopie (180-800nm). Dementsprechend kann dieses Verfahren nur bei Verbindungen angewendet werden, die in diesem Bereich absorbieren. Die Grundlage beruht auf der Wechselwirkung von zirkular polarisiertem Licht mit chiralen Verbindungen. Die theoretische Interpretation der Spektren basiert auf der quantenchemischen Beschreibung des Grund- und angeregten Zustandes. Der Circulardichroismus liefert Informationen über die räumliche Anordnung im Grundzustand des Moleküls und ermöglicht die Bestimmung der absoluten Konfiguration von Stereozentren (Frank-Condon-Prinzip).^[71, 72]

Ein Sonderfall ist die induzierte Chiralität von zwei achiralen Chromophoren. So entsteht das CD-Signals eines Moleküls bestehend aus zwei achiralen Chromophoren mit inhärenter Chiralität (Molekül besitzt keine Symmetrie) durch Dipol-Dipol-Interaktion der zwei zueinander chiral orientierten Chromophore. Es gilt, dass jeder von diesen Chromophoren einen elektrisch erlaubten Übergang besitzt. Ein besonderer Fall ist die Dipol-Quadrupol-Interaktion. Es handelt sich um eine Interaktion von einem elektrisch erlaubten Übergang eines Chromophors mit einem magnetisch erlaubten Übergang eines zweiten Chromophors. Der letzte Mechanismus beruht auf der inneren Interaktion

der elektronischen Konfigurationen des Chromophors unter Einfluss von einem elektrostatischen Potential, dessen Zentrum zum Chromophor chiral orientiert ist.

Bei der Analyse der Absorptions- und CD-Spektren der Flavindimere ist zu berücksichtigen, dass das Molekül aus zwei verbundenen Monomeren besteht und der Ribitylrest der Hauptträger der Chiralität ist. Das CD-Spektrum des Riboflavins ist gut untersucht.^[73-76] Im CD-Spektrum sind Maxima bei 455, 345, 270 und 220nm zu finden. Diese können den Cottonbanden zugeordnet werden. Die Chiralität des Ribitylrestes überträgt sich auf das Flavinchromophor, dessen Maxima eben bei 455, 345, 270 und 220nm liegen. Zwei Hauptcottonbanden bei 455 und 345nm sind das Ergebnis der Interaktionen des π - π^* -Elektronenüberganges des Flavinchromophores mit den chiralen Zentren des Ribitylrestes. Zwei andere Cottonbanden bei 270 und 220nm entstehen wahrscheinlich durch die Interaktion vom Benzolring oder der Carbonylgruppe mit den chiralen Zentren des Ribitylrestes. Ein ähnliches Verhalten wurde bei Verbindung **54** beobachtet. (Abbildung 4.4-5)

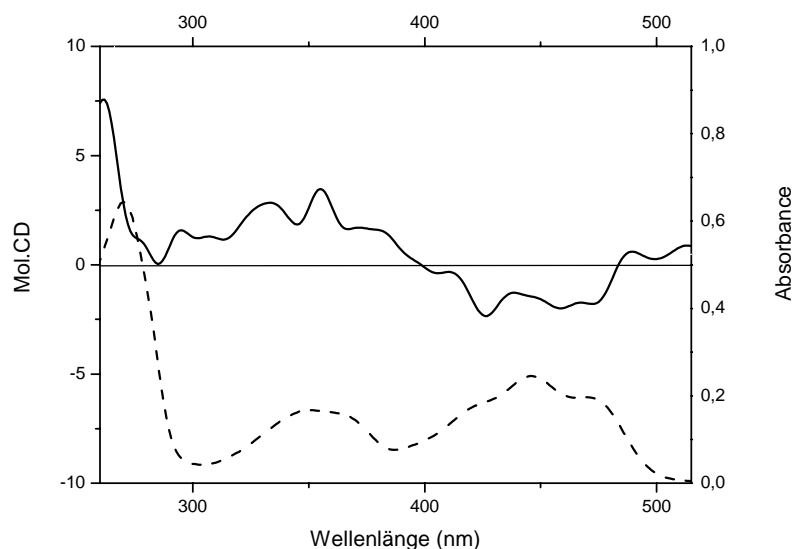


Abb. 4.4-5: CD- (voll) und Absorptionsspektrum (---) des Monomers **49** in Methylenchlorid $c=1,8 \cdot 10^{-5} \text{ M}$.

Das CD-Spektrum von Flavindimer **57** (Abbildung 4.4-6) liefert Cottonbanden bei 511 und 483nm, die den zwei Maxima im UV-Spektrum bei 511 und 485nm angehören. Zwei weitere Bande zeigen sich bei 337 und 269nm. Der Nulldurchgang liegt bei 318 und 372nm. Die Cottonbande bei 337nm ist unerwartet, da im UV-Spektrum sich nur eine schwache Absorption findet. Es kann keine Entscheidung getroffen werden, ob es

sich um einen Teil eines Couplets handelt, oder um einen lokalisierten Übergang. Es gibt einige Unterschiede zum CD-Spektrum des Monomers **49**. Im Monomerspektrum hat das Maximum ein negatives Couple, im Flavindimerspektrum ist es dagegen positiv. Die Intensität des größten Übergangs ist achtmal so groß als beim Monomer. Das liegt an der doppelten Anzahl von Ribitylresten und auch an der Verdrillung der Isoalloxazineinheiten aus der Ebene um die 8,8'-Bindung. Bemerkenswert ist die im CD-Spektrum beobachtete Separation der Maxima bei 483 und 511nm, die im UV-Spektrum überlappt erscheinen. Für die Separation der Maxima in Gausslinien, siehe auch *Abbildung 4.4-4*.

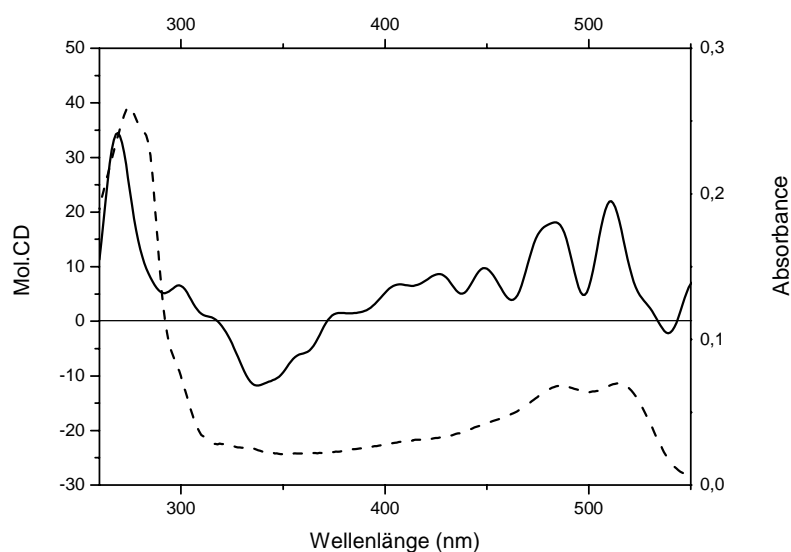


Abb. 4.4-6: CD- (voll) und Absorptionsspektrum (---) des Ethen-Flavindimers **57** in Methylenchlorid $c = 1,4 \cdot 10^{-6} \text{M}$.

Die schwachen Cotton-Effekte im Bereich der Flavindimerenabsorption zeigen, dass eine „Übertragung“ der Chiralität vom optisch aktiven Ribitylrest auf die angebundenen Chromophore erfolgt. Sämtliche CD-Daten der Flavindimere sind in *Tabelle 4.4-2* zusammengefasst.

| <i>Verbindung</i> | <i>Lösungsmittel</i> | <i>λ (nm)</i> |
|-------------------|----------------------|--|
| 49 | ACN | 462(-), 440(-), 414(-), 330(+), 250(-), 220(+) |
| | MC | 459(-), 441(-), 410(-), 360(+), 330(+), 250(+) |
| 51 | ACN ^a | 580(-), 545(+), 457(-), 274(-), 227(-) |
| 52 | ACN | 503(-), 471(-), 331(+), 259(-), 230(+), 497(-), 475(-), 341(+) |
| | Aceton | |
| 53 | ACN | 461(-), 440(-), 412(-), 330(+), 266(-), 220(+) |
| 54 | ACN | 462(-), 435(-), 418(-), 358(+), 270(+), 248(-), 232(+), 221(-) |
| 56 | ACN | 500(+), 483(+), 347(-), 284(+), 247(+), 234(-), 223(-) |
| | MC | 510(+), 481(+), 350(-), 302(+), 261(+) |
| | Toluol ^a | 584(-), 552(+), 517(+), 450(-) |
| | solid | 586(-), 549(+), 519(+), 450(-) |
| 57 | MC | 510(+), 483(+), 336(-), 267(+) |
| 58 | ACN | 462(-), 435(-), 415(-), 362(+), 267(+), 245(-), 239(+), 220(-) |

(a)- Kolloid, (+, -)- positives bzw. negatives Signal

Tabelle 4.4-2: Circulardichroismus der Flavinmonomere und -dimere

4.5 Fluoreszenzspektroskopie der Flavindimere

4.5.1 Stationäre Fluoreszenzspektroskopie

In Kapitel 2 und 3 wurden die Fluoreszenzeigenschaften der „monomeren“ Isoalloxazinderivate untersucht. In diesem Kapitel werden die Fluoreszenzeigenschaften der neuen Substanzklasse der Flavindimere im Bezug zu den bekannten Fluoreszenzeigenschaften der Isoalloxazine besprochen. Auch die partielle strukturelle Ähnlichkeit der Ethen-Flavindimere mit Stilben und der daraus resultierenden Tatsachen, werden berücksichtigt.

In *Abbildung 4.5-1* sind die Fluoreszenzspektren von Monomer **49**, Ethen-Flavindimer **52** und Ethan-Flavindimer **53** dargestellt. Die Spektren von Monomer **49** und Ethan-Flavindimer **53** sind nahezu identisch und mit Ergebnissen aus der Literatur vergleichbar.^[9-11] Dagegen zeigt Ethen-Flavindimer **52** eine bathochrom verschobene Fluoreszenz.

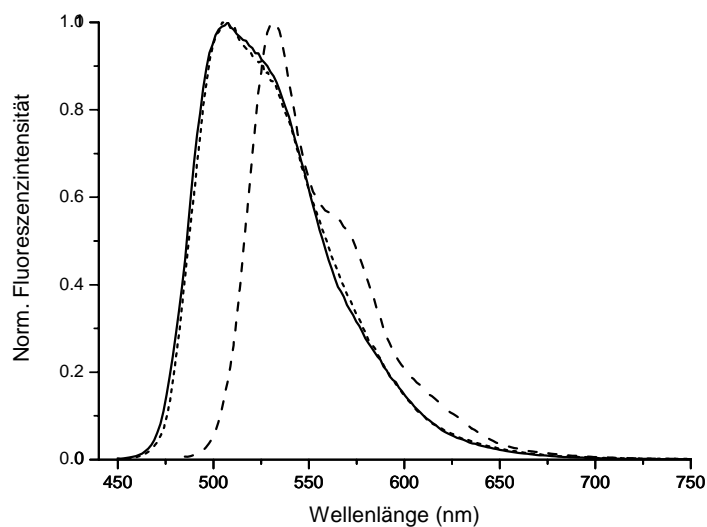


Abb. 4.5-1: Normierte Fluoreszenzspektren von **49** (voll, $\lambda_{\text{ex}} = 441\text{nm}$), **52** (---, $\lambda_{\text{ex}} = 477\text{nm}$) und **53** (..., $\lambda_{\text{ex}} = 446\text{nm}$) in Acetonitril.

Die Fluoreszenzspektren der Ethen-Flavindimere sind durch eine starke Bande bei 530nm und einer Schulter bei 568nm geprägt. Generell haben Ethen-Flavindimere einen kleineren Stokes-Shift von 1359cm^{-1} (**51** in Acetonitril) im Vergleich zum Monomer **49**, dessen Stokes-Shift 2991cm^{-1} in Acetonitril beträgt. Das lässt sich durch eine kleinere Geometrieänderung bei Ethen-Flavindimeren im angeregten Zustand erklären. (Abbildung 4.5-2)

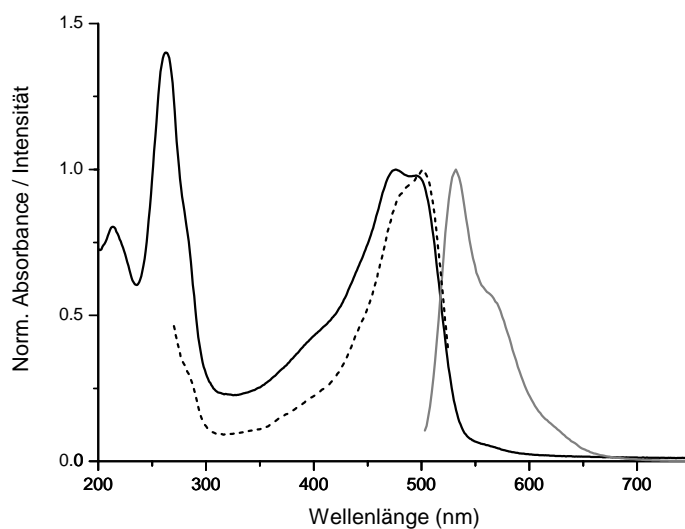


Abb. 4.5-2: Normiertes Absorptions- (voll), Anregungs- (..., $\lambda_{\text{em}} = 533\text{nm}$) und Fluoreszenzspektrum (voll, grau, $\lambda_{\text{ex}} = 497\text{nm}$) von **51** in Acetonitril.

Die Position des Fluoreszenzmaximums der Flavindimere im Fluoreszenzspektrum zeigt eine geringe Lösungsmittelabhängigkeit. Eine größere Abhängigkeit weist die Schulter auf, deren Form sich leicht mit der Polarität des Lösungsmittels ändert. (Abbildung 4.5-3)

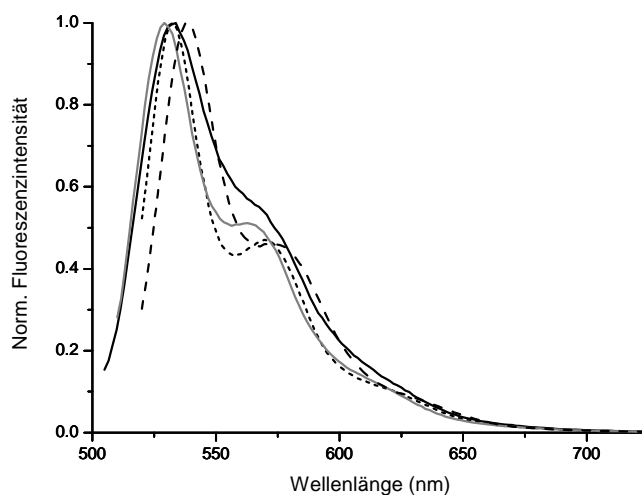


Abb. 4.5-3: Fluoreszenzspektren von **56** in Acetonitril (voll, schwarz, $\lambda_{\text{ex}} = 497\text{nm}$); Toluol (... , $\lambda_{\text{ex}} = 511\text{nm}$); THF (voll, grau, $\lambda_{\text{ex}} = 502\text{nm}$) und Methylenchlorid (---, $\lambda_{\text{ex}} = 512\text{nm}$).

Die Fluoreszenzspektren der Ethan-Flavindimere **53** und **58** sind identisch mit den Spektren der zugehörigen Monomere **49** bzw. **54**. Die Spektren bestehen aus einer Hauptbande und einer Schulter, deren Form vom Lösungsmittel abhängig ist. (Abbildung 4.5-4)

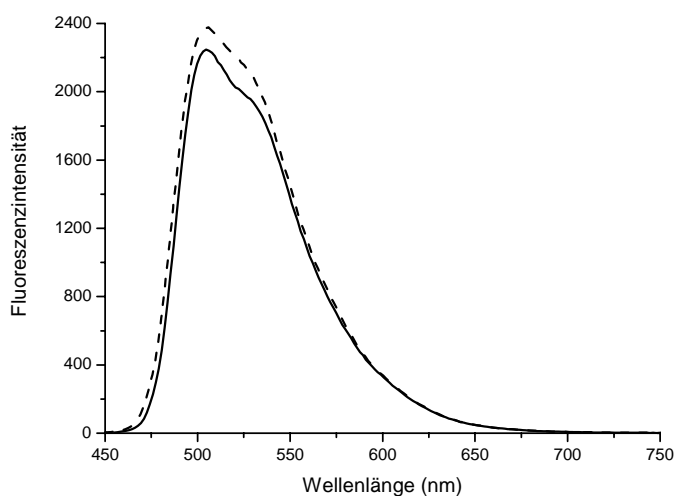


Abb. 4.5-4: Fluoreszenzspektrum des Monomers **54** ($\lambda_{\text{ex}} = 441\text{nm}$; ---, $c = 5 \cdot 10^{-6}\text{M}$) und des Ethan-Flavindimers **58** ($\lambda_{\text{ex}} = 447\text{nm}$; voll, $c = 2,5 \cdot 10^{-6}\text{M}$) in Acetonitril.

Die Fluoreszenzmaxima der vermessenen Verbindungen sind mit den Anregungswellenlängen in *Tabelle 4.5-1* aufgelistet.

| <i>Verbindung</i> | <i>Lösungsmittel</i> | $\lambda_{ex.} (nm)$ | $\lambda_{em.} (nm)$ | Φ_{FL}^b |
|-------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------|
| 49 | ACN | 441 | 508 | 0,37 |
| | MeOH | 443 | 515 | |
| | MC | 445 | 504 | |
| | THF | 441 | 496, 521 | |
| | Toluol | 444 | 497, 520 | |
| 51 | ACN | 476, 495 | 532, 568sh | 0,30 |
| | MeOH | 485, 496 | 537, 568sh | |
| | MC | 483, 504 | 536, 566sh | |
| | THF | 473, 500 | 529, 562 | |
| | Toluol ^a | - | - | |
| 52 | ACN | 477, 499 | 532, 568sh | 0,31 |
| | MeOH | 483, 499 | 538, 567sh | |
| | MC | 482, 505 | 534, 569sh | |
| | THF | 476, 498 | 529, 561 | |
| | Toluol | 481, 505 | 531, 568 | |
| 53 | ACN | 446 | 507 | 0,32 |
| | MeOH | 447 | 516 | |
| | MC | 450 | 506 | |
| | THF | 446 | 499, 524 | |
| | Toluol | 447 | 498, 526 | |
| 54 | ACN | 441 | 507 | 0,4 |
| | MeOH | 444 | 517 | |
| | MC | 446 | 505, 523 | |
| | THF | 441 | 496, 520 | |
| | Toluol | 443 | 497, 521 | |
| 56 | ACN | 477, 497 | 533, 569sh | 0,32 |
| | MeOH | 485, 502 | 542, 577sh | |
| | MC | 485, 512 | 540, 577sh | |
| | THF | 478, 502 | 529, 560 | |
| | Toluol | 482, 511 | 534, 570 | |
| 57 | ACN | 479, 498 | 535, 572sh | 0,33 |
| | MeOH | 487, 507 | 541, 577sh | |
| | MC | 487, 514 | 538, 573 | |
| | THF | 479, 503 | 531, 563 | |
| | Toluol | 483, 511 | 533, 570 | |
| 58 | ACN | 447 | 507 | 0,32 |
| | MeOH | 449 | 515 | |
| | MC | 450 | 503, 530 | |
| | THF | 445 | 497, 526 | |
| | Toluol | 448 | 497, 524 | |

(a)-unlöslich, sh-Schulter

(b)-bezogen auf Riboflavin in Wasser ($\Phi_{Fl} = 0.26$)

Tabelle 4.5-1: Fluoreszenzeigenschaften der Flavinmonomere und –dimere

4.5.2 Zeitaufgelöste Fluoreszenzspektroskopie

Um mehr über die Eigenschaften der Flavindimere im angeregten Zustand zu erfahren, wurden zeitaufgelöste Messungen durchgeführt (Dr. H. Görner, Max-Planck-Institut in Mühlheim a.d. Ruhr). Die Ergebnisse sind in *Tabelle 4.5-2* zusammen mit Daten aus stationären Fluoreszenzmessungen aufgelistet. In Kapitel 4.1.2 wurde die strukturelle Ähnlichkeit der Ethen-Flavindimere angesprochen. Da Stilbene eine E/Z-Isomerisierung ausüben, lässt sich vermuten, dass man diesen Prozess bei Ethen-Flavindimeren gleichfalls beobachten kann.

| <i>Verbindung</i> | <i>Lösungsmittel</i> | λ_f (nm) | τ_f (ns) ^a | Φ_f |
|-------------------|----------------------|------------------|----------------------------|----------|
| 54 | MC | 506 | 6,1 | 0,4 |
| | ACN | 506 | 6,8 | 0,4 |
| 56 | MC | 540 | 2,1/7 | 0,3 |
| | EtOH | 546 | 2,7/7 | 0,3 |
| | ACN | 546 | 2,5/6 | 0,3 |
| 57 | TFE | 546 | 2,0/8 | 0,3 |
| | MC | 540 | 2,1/7 | 0,3 |
| | ACN | 546 | 2,1/5 | 0,3 |
| 58 | MC | 509 | 6,1 | 0,3 |
| | ACN | 509 | 6,3 | 0,3 |
| Riboflavin | H ₂ O | | | 0,28 |

^aLebensdauer der ersten/zweiten Komponente. In Ar-gesättigten Lösungen, $\lambda_{ex} = 450\text{nm}$.

Tabelle 4.5-2: Fluoreszenzeigenschaften der Flavindimere.

Die zeitaufgelösten Messungen der Fluoreszenz der Ethen-Flavindimere **56** und **57** zeigen, dass sich neben einer Hauptkomponente (80-90%) mit der Fluoreszenzlebensdauer um 2ns noch eine Nebenkompente mit der Fluoreszenzlebensdauer um 5-8ns bildet. Die Fluoreszenzlebensdauer der Ethen-Flavindimere ist kürzer als die von Monomer **54** und Ethan-Flavindimer **58**. Die kurze Lebensdauer von **56** und **57** lässt sich dadurch erklären, dass die Verbindungen aufgrund der starken Kopplung nicht mehr mit den Eigenschaften der Monomere vergleichbar sind. In Kapitel 4.1.4 wurde kurz aufgezeigt, dass sich auch Flavindimere mit einer flexiblen Brücke, die keine Wechselwirkung vermittelt, beeinflussen könnten. Es ist aber aus den Fluoreszenzlebensdauerdaten offensichtlich, dass im Fall von Ethan-Flavindimer **58** keine Wechselwirkung im angeregten Zustand stattfindet. Wäre dies der Fall, müsste sich die Fluoreszenzlebensdauer verkürzen, was für einen Energietransferprozess sprechen würde.^[8]

Es wurde keine E/Z-Isomerisierung beobachtet. Eine mögliche Erklärung dafür wäre die starke sterische Hinderung der Rotation durch die Methylgruppen in der 7- bzw. 7'-Position.

Die spektroskopischen Untersuchungen des Tripletzustandes der Flavindimere wurden durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Messungen sind in *Tabelle 4.5-3* zusammengefasst. Die Daten zeigen, dass die Lebensdauer des Tripletzustandes τ_T und k_{ox} für alle gemessene Verbindungen **54**, **56**, **57** und **58** ähnlich sind.

| <i>Verbindung</i> | <i>Lösungsmittel</i> | λ_{bT} (nm) | λ_{aT} (nm) | τ_T^a (μs) | Φ_{isc} | $k_{ox} (x10^9 M^{-1}s^{-1})$ |
|-------------------|----------------------|---------------------|---------------------|------------------------|--------------|-------------------------------|
| 52 | MC | 470 | 680 | 30 | - | 1 |
| | ACN | 470 | 680 | 30 | - | 2.5 |
| 53 | MC | 470 | 680 | 20 | 0.3 | 1 |
| | EtOH | 480 | 360, 680 | 30 | - | 3 |
| | ACN | 470 | 360, 680 | 30 | 0.3 | - |
| | TFE | 490 | 680 | >10 | - | - |
| 54 | MC | 470 | 680 | 30 | - | 1 |
| | ACN | 490 | 680 | 30 | - | - |
| 55 | MC | 460 | 380, 620 | 20 | - | 1 |
| | ACN | 450 | 390, 620 | 30 | - | 2 |
| Riboflavin | H ₂ O | - | - | - | 0.38 | - |

In Ar-gesättigten Lösungen, $\lambda_{ex} = 248$ nm. ^aLow pulse intensity.

Tabelle 4.5-3: Eigenschaften der Tripletzustände der Flavindimere.

4.6 Elektrochemie und Spektroelektrochemie der Flavindimere

4.6.1 Cyclovoltammetrie

Aufgrund der Redoxaktivität des Isoalloxazingrundkörpers sollten auch die Dimere elektrochemisch aktiv sein. Es ist nötig die zwei Flavindimerenklassen aufgrund der Kommunikation zwischen den Isoalloxazinunterteilen strikt zu unterscheiden. Bei Ethan-Flavindimeren können sich die Isoalloxazinunterteile nur durch den Raum beeinflussen. Dagegen ist bei Ethen-Flavindimeren eine direkte Verbindung zwischen den Unterteilen vorhanden (Verknüpfung der π -Systeme), die zu einem anderen Redoxverhalten führen kann.

Ethen-Flavindimere lassen sich elektrochemisch reduzieren. Bei der Reduktion tritt in verschiedenen Lösungsmitteln eine reversible und eine weitere irreversible Reduktionswelle auf. (Abbildung 4.6-1) Im positiven Bereich des Cyclovoltammogramms zeigen Ethen-Flavindimere eine irreversible Oxidationswelle.

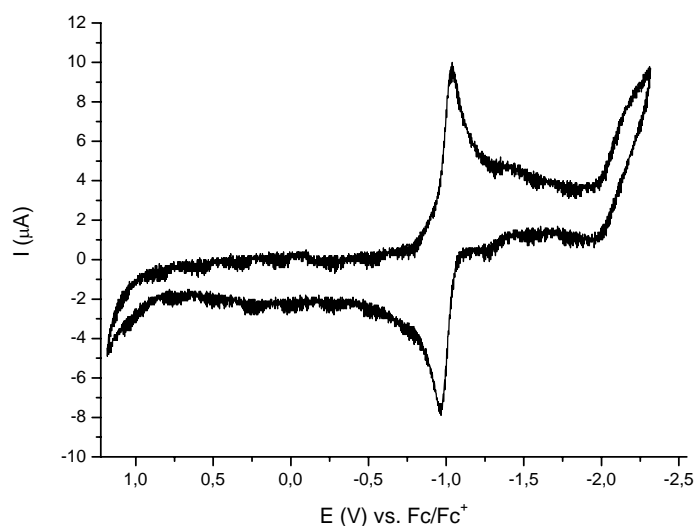


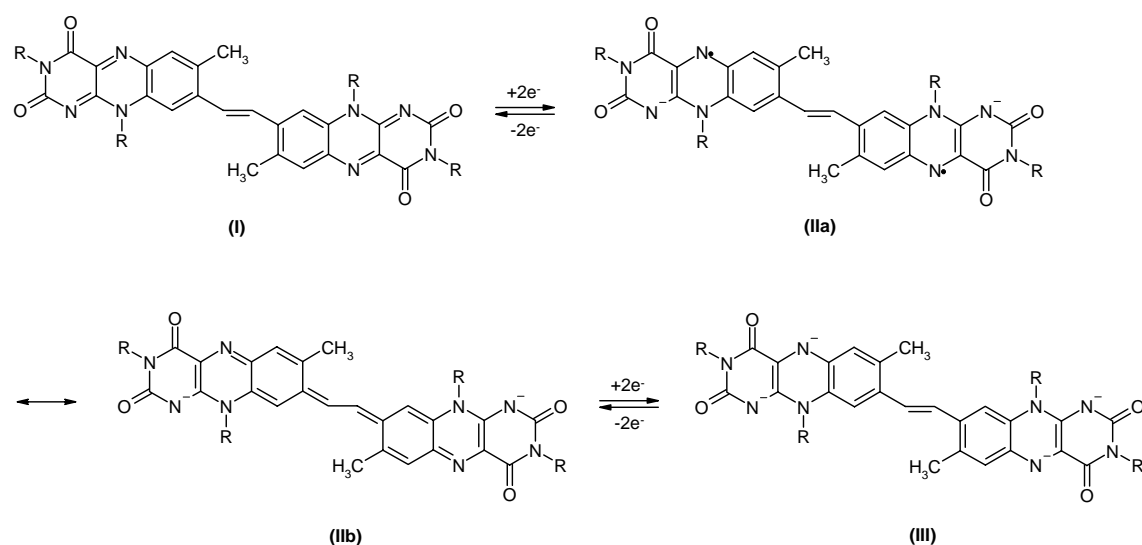
Abb. 4.6-1: Cyclovoltammogramm von **56** in Methylenchlorid, $c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ / 0,1M TBAHFP, Vorschubgeschwindigkeit: 250mV/s.

Die erste (reversible) Reduktionswelle von **56** in Acetonitril hat ein Halbstufenpotential bei $E_{1/2} = -961 \text{ mV}$. Das Halbstufenpotential des zugehörigen Monomers **54** liegt bei $E_{1/2} = -1212 \text{ mV}$ in Acetonitril. Generell sind Ethen-Flavindimere **51**, **52**, **56**, **57** mit der ersten Reduktion im Bereich von -950 bis -1039mV leichter reduzierbar als ihre Monomere **49**, **50**, **54**, **55**, deren erste Reduktion im Bereich von -1179 bis -1220mV liegt. In *Tabelle 4.6-1* sind die Halbstufenpotentiale der gemessenen Verbindungen aufgelistet.

| Verbindung | Lösungsmittel | $E_{1/2}^{red}(mV)$ | $\Delta E^{red}(mV)$ | Bem. |
|------------------------|---------------|---------------------|----------------------|------|
| 49^{a)} | ACN | -1215 | | [77] |
| | DMSO | -1201 | | |
| 50 | ACN | -1220 | 66 | [77] |
| 51 | DMSO | -964 | 58 | |
| 52 | ACN | -950 | 62 | |
| | MC | -995 | 122 | |
| 53 | ACN | -1203 | 115 | |
| 54^{a)} | ACN | -1212 | | |
| | DMSO | -1197 | | |
| 55 | ACN | -1215 | 77 | |
| | DMSO | -1179 | 74 | |
| 56 | ACN | -961 | 49 | GCE |
| | MC | -990 | 84 | |
| | DMSO | -960 | 65 | |
| | ACN | -960 | 45 | |
| 57 | ACN | -978 | 54 | |
| | MC | -1039 | 114 | |
| 58 | ACN | -1179 | 102 | |
| | MC | -1280 | 158 | |
| | DMSO | -1164 | 101 | |

a) E_{pc}^{red} **Tabelle 4.6-1:** Halbstufenpotentiale der Flavindimere und ihrer Monomere

Laut Hemmerich^[3] können Ethen-Flavindimere vier Elektronen (jeder Teil zwei Elektronen) aufnehmen. Man sollte dann im reduktiven Bereich des CVs insgesamt vier Reduktionswellen beobachten. Da bei der Reduktion nur zwei Prozesse beobachtet werden, kann man vermuten, dass die Reduktion in Zweielektronenschritten verläuft. (Schema 4.6-1)

**Schema 4.6-1:** Reduktion des Ethen-Flavindimers.

Nach der Simulation des Cyclovoltammogrammes von **56** mit einem Simulationsprogramm (DigiSim 3.03, Bioanalytical Systems, Inc.; Parameter: Reaktion: $A + e^- = B$, $B + e^- = C$, Vorschubgeschwindigkeit: 250mV/S, Temperatur: 298,2K, Kapazität: 2,1 μ F) wurde festgestellt, dass es sich tatsächlich um einen Zweielektronenprozess handelt, da sich eine 99%ige Übereinstimmung der gemessenen und der berechneten Werte für diesen Prozess ergibt. Wenn sich die erste und zweite Reduktion um weniger als 60mV unterscheiden, sieht man im Cyclovoltammogramm keine getrennten Reduktionswellen.^[78] Die Potentiale für die erste und zweite Reduktion von **56** in Acetonitril, mit Glassy Carbon Elektrode (GCE) gemessen, liegen bei -965 bzw. -953mV. Das führt dazu, dass man im Cyclovoltammogramm nur eine Reduktionswelle für beide Prozesse beobachtet. (Abbildung 4.6-2)

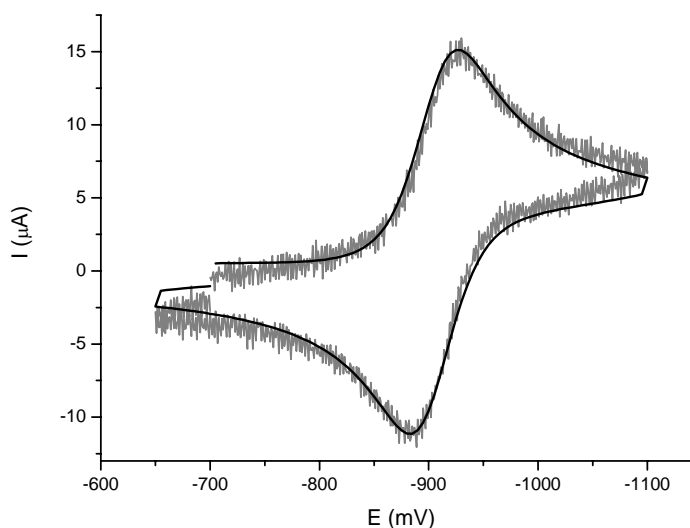


Abb. 4.6-2: Cyclovoltammogramm von **56** in Acetonitril (grau), gemessen mit GCE, $c = 5 \cdot 10^{-4}$ M / 0,1M TBAHFP, Vorschubgeschwindigkeit: 250mV/s, und gefittetes Cyclovoltammogramm (schwarz).

Die Gewissheit, dass tatsächlich der stilbenoide Typ vorliegt, wurde mittels elektrochemischen Untersuchungen untermauert. Experimentell wurde festgestellt, dass es sich im ersten Schritt um eine Zweielektronenreduktion handelt. Da eine weitere Reduktion von **II** zu **III** durchführbar ist, lässt sich daraus schließen, dass die tatsächliche Struktur des Dimers die Struktur **I** (bisher stilbenoider Typ des Dimers) ist. (Schema 4.6-1) Die quinoide Struktur (protonierte **IIb** Struktur) kann nur einmal (Zweielektronentransfer) reduziert werden. Ein stärker gekoppeltes System als Ethen-Flavindimere stellen Benzodipteridine dar. (Abbildung 4.6-3) Deren Reduktion weist im Cyclovoltammogramm

zwei getrennte Einelektronprozesse auf.^[60, 79] Durch die stärkere Kopplung wird das Radikalanion im gesamten System besser stabilisiert als bei Ethen-Flavindimeren. Ein Beitrag zur gestärkten Kopplung leistet hier die Planarität des Systems. Bei Ethen-flavindimeren ist dies, nach den Berechnungen, nicht gewährleistet. Der Winkel zwischen den Isoalloxazinebenen beträgt 36°.

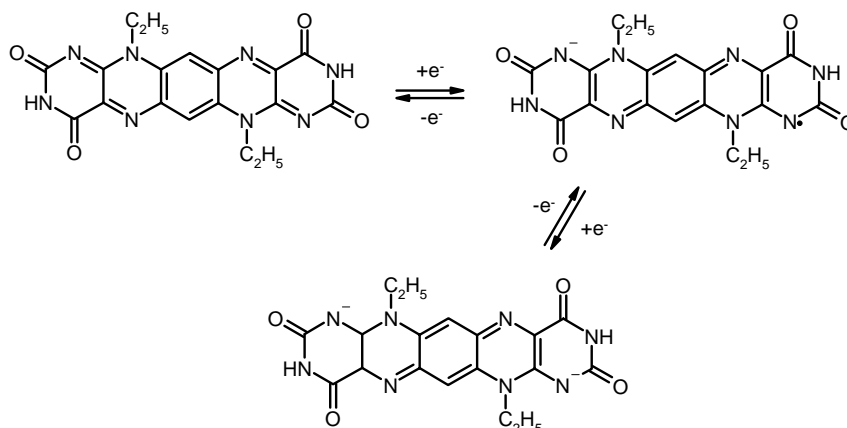


Abb. 4.6-3: Reduktion von Benzodipteridin.

Beim vollreduzierten Ethen-Flavindimer ist eine strukturelle Ähnlichkeit mit 4,4'-Diaminostilbenderivaten zu finden. (Abbildung 4.6-4)

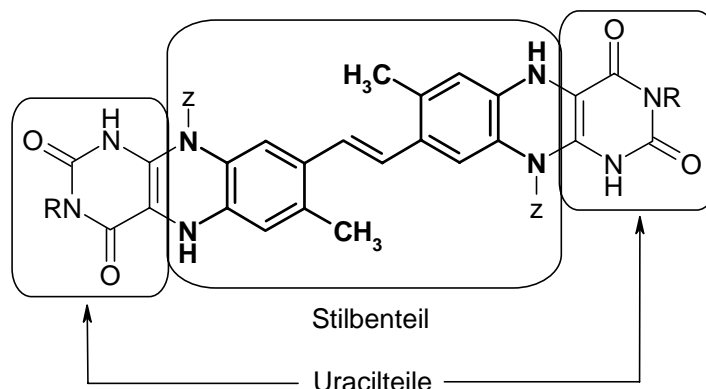
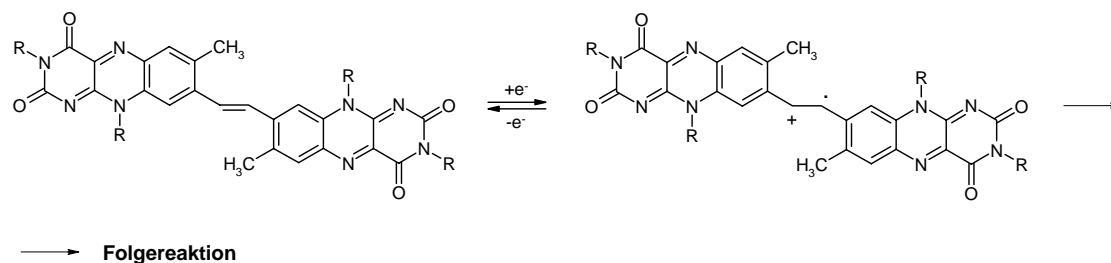


Abb. 4.6-4: Ethen-Flavindimer im vollreduzierten Zustand und Unterteilung auf Uracil- und Stilbenteil.

Obwohl der größte Unterschied in der Einelektron- (4,4'-Diaminostilbenderivat) und Zweielektronenreduktion (Ethen-Flavindimer) liegt, kann der Zweielektronentransfer bei der ersten Reduktion durch eine Stabilisierung der negativen Ladung im Uracilteil erklärt werden. Das Halbstufenpotential von 4,4'-N,N,N',N'-Tetramethyldiaminostilben beträgt -2,530V vs. SCE in DMF, damit liegt dieses Potential wesentlich negativer als bei Ethen-Flavindimeren. Den Vergleich dieser zwei Substanzklassen wird erweitert,

wenn die Animogruppe durch die Nitrogruppe ersetzt wird. In diesem Fall ändert sich das Halbstufenpotential der ersten Reduktion des 4,4'-Dinitrostilbenes auf $-0,971\text{V}$ vs. SCE in DMF^[80] und $-1,37\text{V}$ vs. Fc/Fc^+ in Acetonitril^[81], was mit dem Halbstufenpotential der Ethen-Flavindimeren vergleichbar ist. Der Uracilteil verhält sich im wesentlichen wie eine Akzeptorgruppe. Eine weitere Reduktion zeigt einen irreversiblen Prozess sowohl bei 4,4'-Diamino- und 4,4'-Dinitrostilbenderivaten als auch bei Ethen-Flavindimeren.

Die im oxidativen Teil des Cyclovoltammogrammes auftretende irreversible Redoxwelle, wurde auch bei 4,4'-disubstituierten Stilbenen beobachtet. Der Prozess wird der Oxidation an der Doppelbindung zugeordnet. Wie bei der Reduktion kann man die Ethen-Flavindimere als Stilbensysteme betrachten. Da bei Isoalloxazinen keine Oxidation im Cyclovoltammogramm stattfindet, lässt sich daraus schließen, dass die Oxidation der Doppelbindung angehört. Die Oxidationspotentiale liegen im weiten oxidativen Bereich (z.B. $+1,49\text{V}$ vs. SCE in MeOH von Stilben-4,4'-dicarboxysäure Dimethylester und $+1,45\text{V}$ vs. SCE von unsubstituiertem Stilben in Acetonitril) oder an der Grenze der Oxidation des Lösungsmittels, wie z.B. 4,4'-Dinitrostilben.^[82] Im *Schema 4.6-2* ist der Oxidationsprozess gezeigt.



Schema 4.6-2: Oxidation des Flavindimers.

Flavine (Monomere) mit unsubstituierter N(3)-Position weisen aufgrund des aziden Protons eine zusätzliche Reoxidationswelle nach der ersten Reduktion auf. (s. *Kapitel 2.5*) Auch die Monomere **49** und **54** zeigen diese zusätzliche Redoxwelle. (*Abbildung 4.6-5*)

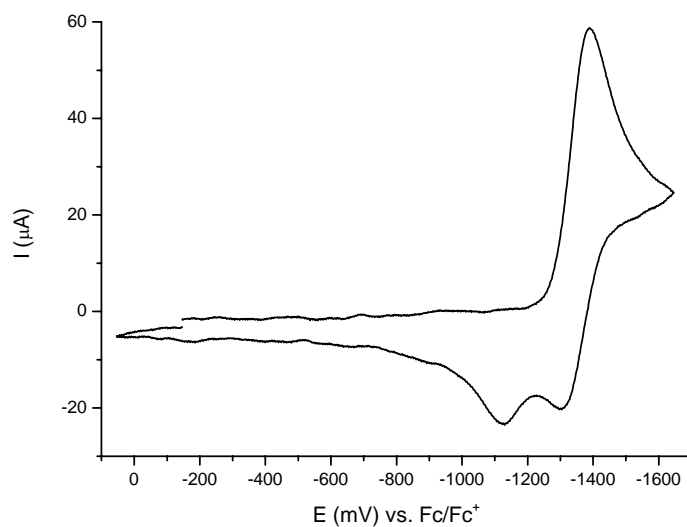


Abb. 4.6-5: Protonierung von **54** in Acetonitril; 0,1M TBAHFP, Vorschubgeschwindigkeit: 250mV/s.

Im Gegensatz dazu stehen Ethen-Flavindimere **51** und **56**. Sie zeigen nur eine Reoxida-tionswelle. Die Cyclovoltammogramme dieser Verbindungen sind fast mit den Ethen-Flavindimeren **52** und **57** identisch, welche an der N(3)-Position alkyliert sind. (*Abbil-dung 4.6-6 und 4.6-7*)

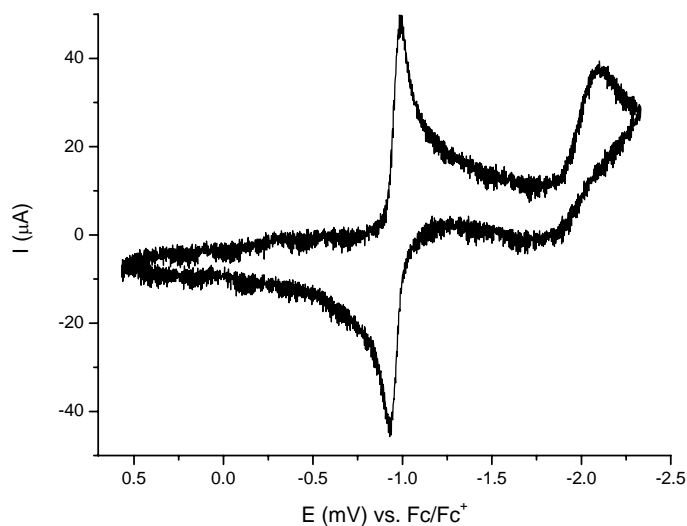


Abb. 4.6-6: Reduktion von **52** in Acetonitril (beide Prozesse) / 0,1M TBAHFP, Vorschubge-schwindigkeit: 250mV/s.

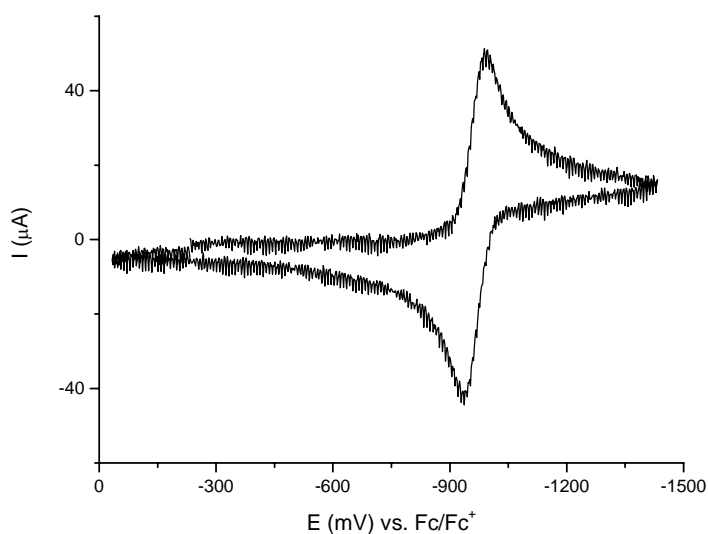


Abb. 4.6-7: Reduktion von **52** in Acetonitril (1. Prozess) / 0,1M TBAHFP, Vorschubgeschwindigkeit: 250mV/s.

Da für dieses Verhalten keine Erklärung gefunden wurde, wurde versucht, die Ethen-Flavindimere **52** und **57** mit einer schwachen Säure zu protonieren. Nach der Zugabe von Phenol nimmt überraschend die zweite Reduktionswelle zu und die erste Reduktionswelle bleibt unverändert. Das heißt, die Protonierung hängt mit dem zweiten irreversiblen Prozess zusammen.

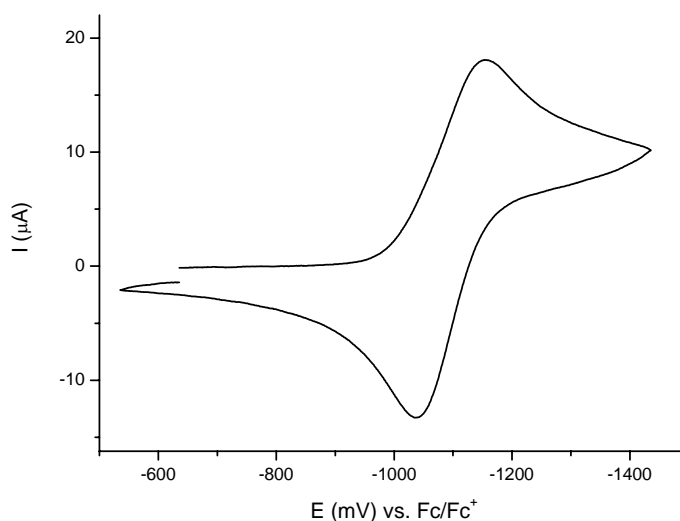


Abb. 4.6-8: Reduktion von **57** in Methylenchlorid (1. Prozess), $c = 5 \cdot 10^{-4} M$ / 0,1M TBAHFP, Vorschubgeschwindigkeit: 250mV/s.

Die Ethan-Flavindimere **53** und **58** zeigen im Cyclovoltammogramm eine reversible und eine irreversible Reduktion. Im oxidativen Bereich des CVs findet kein Prozess statt. (Abbildung 4.6-9)

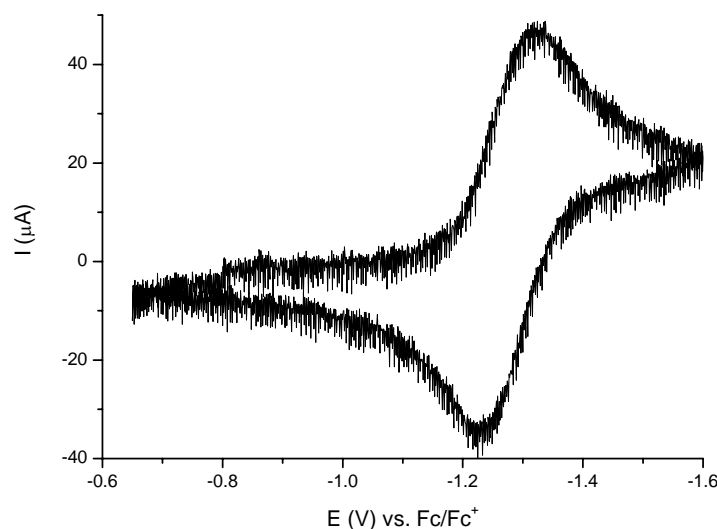
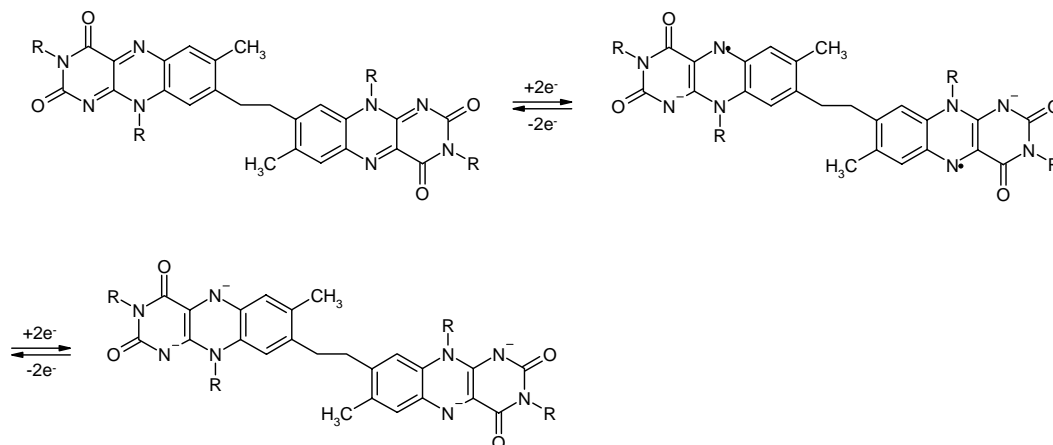


Abb. 4.6-9: Cyclovoltammogramm von **58** in Acetonitril, Vorschubgeschwindigkeit 250mV/s, 0,1M TBAHFP.

Die Halbstufenpotentiale der ersten Reduktion der Verbindungen **53** und **58** stimmen mit den Halbstufenpotentialen der Flavinmonomere **50** und **55** überein. Nach einer Computersimulation verläuft die erste Reduktion über einen Zweielektronenprozess. Das bedeutet, dass beide Flavinsubeinheiten gleichzeitig reduziert werden und keinen Einfluss aufeinander ausüben. (Schema 4.6-3) Die Halbstufenpotentiale der ersten und zweiten Reduktion sind ziemlich ähnlich, was die Vermutung von völlig entkoppelten Monomersubeinheiten nur bestätigt.



Schema 4.6-3: Reduktion von Ethan-Flavindimeren.

Wie schon früher erwähnt wurde, verhält sich **58** wie ein N(3)-alkyliertes Monomer, deshalb weist es im Cyclovoltammogramm nur einen Einelektronenprozess pro Subeinheit auf. Bei Protonierung mit Phenol zeigt das Cyclovoltammogramm eine zweite Reoxidationswelle, die der Protonierung (ECE-Mechanismus, Kapitel 2.5) zuzuschreiben und mit dem Cyclovoltammogramm von **54** vergleichbar ist. Das Ethan-Flavindimer **53** und das zugehörige Monomer **49** verhalten sich ähnlich. (Abbildung 4.6-10)

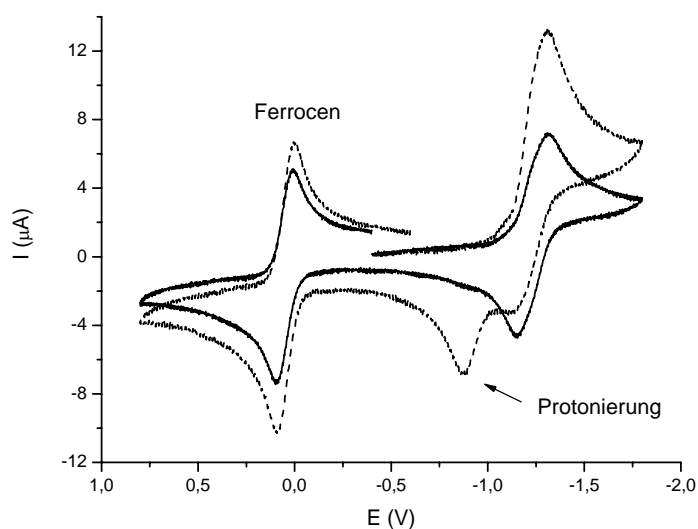


Abb. 4.6-10: Protonierung von **58** in Methylenchlorid, ohne (voll) und mit (---) Phenol; 0,1M TBAHFP, Vorschubgeschwindigkeit: 250mV/s.

Im Squarewave-Experiment sind die Prozesse zu sehen, die im Ethan-Flavindimer **58** (ähnlich **53**) vor und nach einer Protonierung mit einer schwachen Säure verlaufen. (Abbildung 4.6-11) Vor der Zugabe einer Säure sieht man nur ein Prozess im reduktiven Bereich, wenn man beim negativen oder positiven Potential (schwarz, voll und ---) beginnt. Dagegen erkennt man nach der Zugabe von Phenol einen zweiten Prozess, wenn man im negativen Bereich (grau, ---) anfängt. Dies geschieht im Einklang mit dem ECE-Mechanismus.

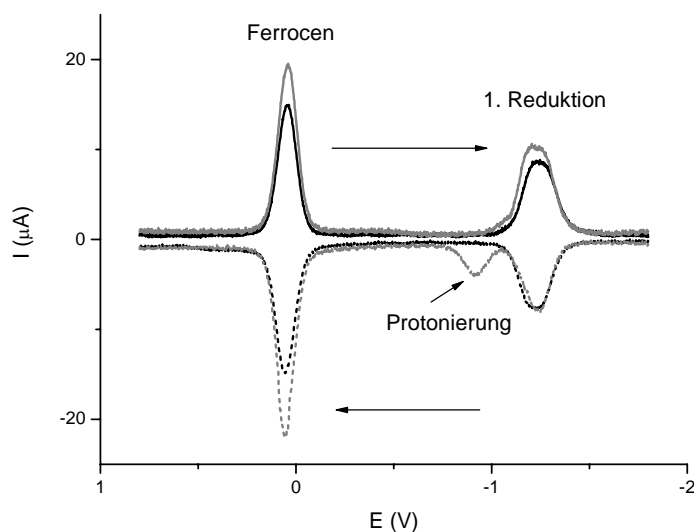


Abb. 4.6-11: Squarewaveexperiment vor (voll, schwarz = $+0,8\text{V} \rightarrow -1,8\text{V}$), (---, schwarz = $-1,8\text{V} \rightarrow +0,8\text{V}$) und nach (voll, grau = $+0,8\text{V} \rightarrow -1,8\text{V}$), (---, grau = $-1,8\text{V} \rightarrow +0,8\text{V}$) der Protonierung von **58** mit Phenol in Methylenchlorid; 0,1M TBAHFP, Vorschubgeschwindigkeit: 250mV/s.

CV-Titration von Ethen-Flavindimer **56** mit Rezeptor **S-61**

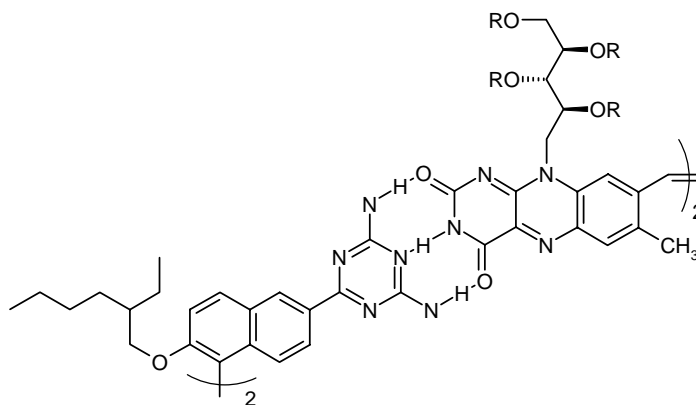


Abb. 4.6-12: Komplexierung von **56** mit **S-61**.

In der jüngsten Literatur wurden Wasserstoffbrücken zu einem Rezeptor in Abhängigkeit vom Redoxzustand des Flavins diskutiert. Die publizierten Ergebnisse zeigen, dass sich die Assoziationskonstante K_a mit dem Redoxzustand stark verändert. Außerdem weisen Flavine eine Änderung des Potentials (positiver als ohne Rezeptor) und des Reoxidationspeaks auf.^[41, 44] Die elektrochemischen Untersuchungen der Komplexierung von Ethen-Flavindimer **56** mit verschiedenen Rezeptoren **S-61**, **64**, Hamilton-Rezeptor wurden durchgeführt. (Abbildung 4.6-12) Von den untersuchten Interaktionen

zwischen dem Ethen-Flavindimer **53** und den o.g. Rezeptoren, wurde eine Veränderung im Cyclovoltammogramm nur nach Zugabe von **S-61** beobachtet. Die erste Reduktionswelle bleibt unverändert (d.h. unbeeinflusst), während die zweite Reduktionswelle abnimmt. (Abbildung 4.6-13) Die Abnahme der Redoxwelle des zweiten Redoxprozesses hängt möglicherweise mit der Stärke der Bindung des N(3)-Wasserstoffs zum Ethen-Flavindimer ab. Eine neue Bindung von N(3)-H zum Rezeptor nach dessen Zugabe entsteht, wobei sich die Elektrondichte an den Sauerstoffen O(2) und O(4) nach der ersten Reduktion erhöht (der Rezeptor wird wesentlich stärker als im neutralem Zustand gebunden), das N(3)-Proton wird stark an dem Rezeptor gebunden und hat keine Möglichkeit zu entweichen, um sich an der Protonierung zu beteiligen. Dieser Prozess wird nur bei den Rezeptoren beobachtet, die eine große Bindungskonstante im neutralen Zustand aufweisen. Die Assoziationskonstanten K_a von **64** und der Hamilton-Rezeptor sind wesentlich niedriger als die von **S-61** (Kapitel 4.8) und weisen dieses Verhalten deshalb nicht auf. Da sich bloß die zweite Reduktionswelle verändert, bestätigt das die Vermutung, dass die Protonierung mit dem zweiten Reduktionsprozess zusammenhängt.

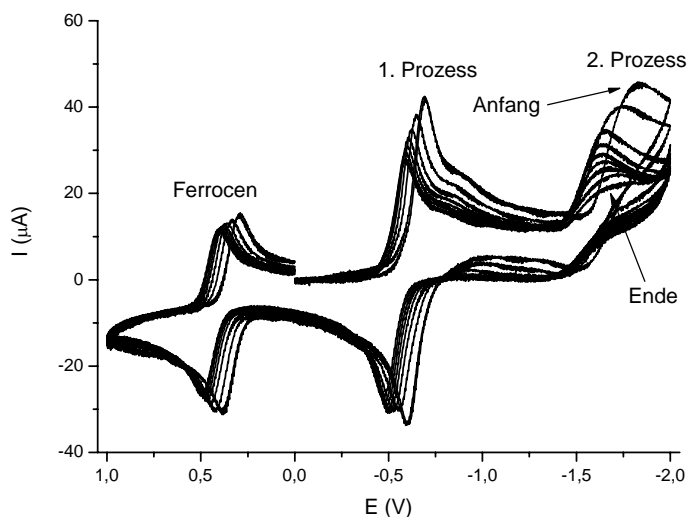


Abb. 4.6-13: CV-Titration von Ethen-Flavindimer **56** mit Rezeptor **S-61** in Methylenchlorid, 0,1M TBAHFP, Vorschubgeschwindigkeit: 250mV/s.

4.6.2 Spektroelektrochemie

Wie bereits in der Einführung besprochen, wurde Ethen-Flavindimer **52** als Nebenprodukt in der Spektroelektrochemie von Riboflavintetraacetat postuliert. Eine Überprü-

fung dieser Vermutung ist anhand der vorliegenden Verbindungen möglich. Die publizierten Ergebnissen der Reduktion des 3-Methyl-2',3',4',5'-Tetraacetylriboflavines^[1, 77, 83] **50** in Acetonitril zeigen die Entstehung einer neuen Bande, die einem Reduktionsprozess vom Ethen-Flavindimer **52** zugeordnet wurde. Das Ethen-Flavindimer **52** soll durch eine chemische Folgereaktion entstehen. Die spektroelektrochemischen Untersuchungen der Monomere **50** und **55** in verschiedenen Lösungsmitteln sollen über die Bildung von Ethen-Flavindimeren **52** und **57** informieren.

Die Messergebnisse von **50** und **55** in Acetonitril zeigen eine neue zwar kleine aber sichtbare Bande bei 730nm, was auf eine Dimerisierung hindeutet. (Abbildung 4.6-14) Die Dimerisierung bzw. das Entstehen der Bande bei 730 nm wird genauso in DMSO beobachtet. Im Methylenchlorid verläuft dieser Prozess nicht. Die Bildung der Bande hängt höchstwahrscheinlich mit der Polarität des Lösungsmittels und der Geschwindigkeit der Ladungsübertragung zusammen. Nach der Reduktion findet eine chemische Reaktion statt. Damit ein Ethen-Flavindimer aus einem Monomer entsteht, müssen $4e^-$ abgegeben werden (Oxidation). Es wird aber unter Reduktion gearbeitet. Deshalb steht der Mechanismus der elektrochemisch bedingten Dimerisierung noch offen. Die Derivate mit Proton an der N(3)-Position **49** und **54** weisen keine Dimerisierung auf.

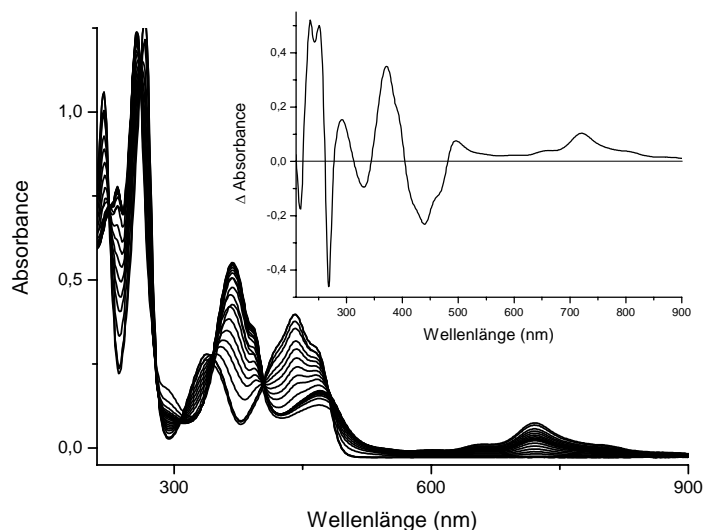


Abb. 4.6-14: Spektroelektrochemie von **50**, 1. Reduktion in Acetonitril; inset: Differenzspektrum.

Während der ersten Reduktion der Ethen-Flavindimere **51**, **52**, **56**, **57** in verschiedenen Lösungsmitteln zeichnet sich eine neue sehr starke Bande bei 730nm im Absorptions-

spektrum. Im Vergleich zu der längstwelligsten Absorption der Ethen-Flavindimere im Bereich von 480-515nm mit dem ϵ -Wert um 50000 ist der Extinktionskoeffizient der neuen Bande bei 730nm von **52** in Acetonitril $112281\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ und ist damit 2,5mal größer. (Abbildung 4.6-15 und 4.6-16)

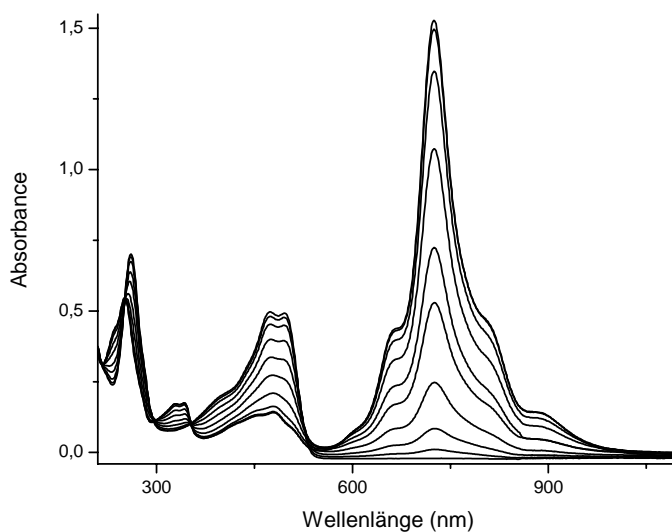


Abb. 4.6-15: Spektroelektrochemie von **52**, 1. Reduktion in Acetonitril.

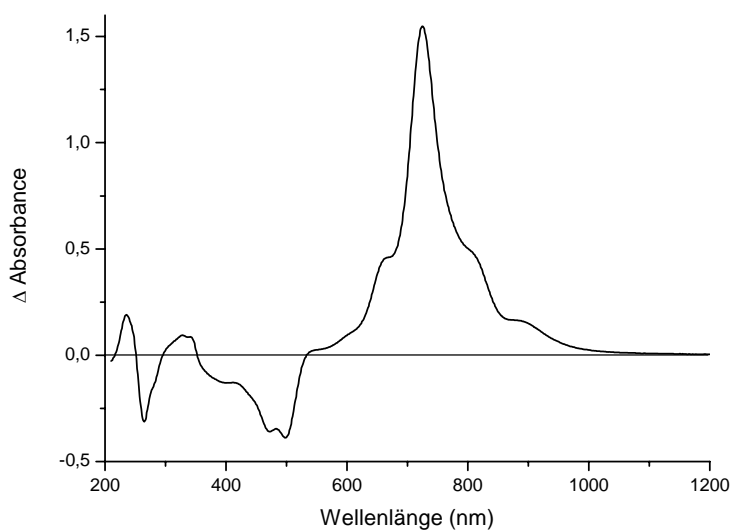


Abb. 4.6-16: Spektroelektrochemie von **52**, 1. Reduktion in Acetonitril, Differenzspektrum.

Dieser Prozess ist vollständig reversibel und die Reoxidation führt, wie erwartet, zum Ausgangsspektrum. Der hohe ϵ -Wert würde für ein Radikalanion sprechen, das in einem großen System delokalisiert ist. Bei der weiteren Reduktion nimmt die Bande bei 730nm ab. Auch hier führt die Reoxidation zum Ausgangsspektrum. Es ist aber fraglich,

ob die zweite, nach dem CV irreversible Reduktion wirklich chemisch reversibel ist, oder ob aufgrund der Diffusion zwischen der bulk-Lösung und der Dünnschicht bzw. des langen Zeitabstandes zwischen der Aufnahme der Spektren das Ausgangsspektrum gefunden werden kann. Beim Versuch die irreversible Oxidation spektroelektrochemisch zu untersuchen (**52** in Acetonitril), wurde keine Veränderung des Absorptionsspektrums beobachtet. Das kann durch ein zu kleines Lösungsmittelfenster erklärt werden.

Ein weiteres Experiment zeigt die Reduktion von **52** in Acetonitril bei einem stabil angelegten Potential (-700mV). Bei diesem Potential wird die Verbindung zum Dianion reduziert. Die im konstanten Zeitabstand aufgenommenen Absorptionsspektren zeigen die Zunahme der Bande bei 725 nm. Aus der zeitabhängigen Absorptionzunahme lässt sich eine sigmoidale Titrationskurve erstellen. (Abbildung 4.6-17) Da die Titrationskurve nur mit einem Derivationsmaximum charakterisiert ist, lässt sich daraus schließen, dass beide Isoalloxazineinheiten gleichzeitig reduziert werden, wie es im vorherigen Kapitel 4.6.1 postuliert wurde.

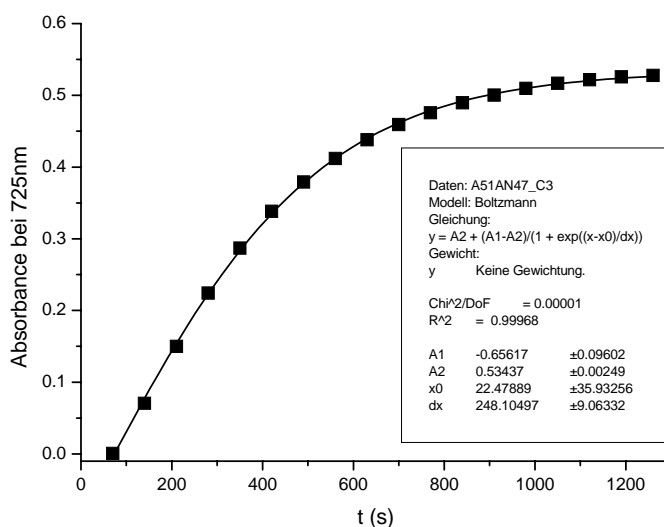


Abb. 4.6-17: Spektroelektrochemie von **52** in Acetonitril, 1. Reduktion, Abhängigkeit von Absorptionzunahme bei 725nm zur Zeit.

Die Abbildungen 4.6-18 und 4.6-19 liefern die Spektren nach der ersten bzw. nach der zweiten Reduktion von **56** in DMSO. In dem Spektrum nach der zweiten Reduktion sieht man die Abnahme der Bande bei 730nm, die von einer neuen Bande bei 535nm ersetzt wird. Die Spektren der Ethen-Flavindimere **51**, **52**, **56** und **57** unterscheiden sich im wesentlichen nicht voneinander.

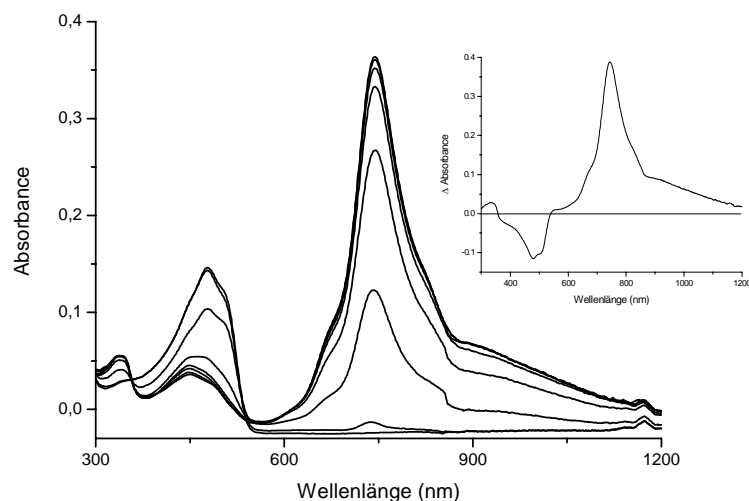


Abb. 4.6-18: Absorptionsspektrum von **56** während der ersten Reduktion in DMSO, inset: Differenzspektrum.

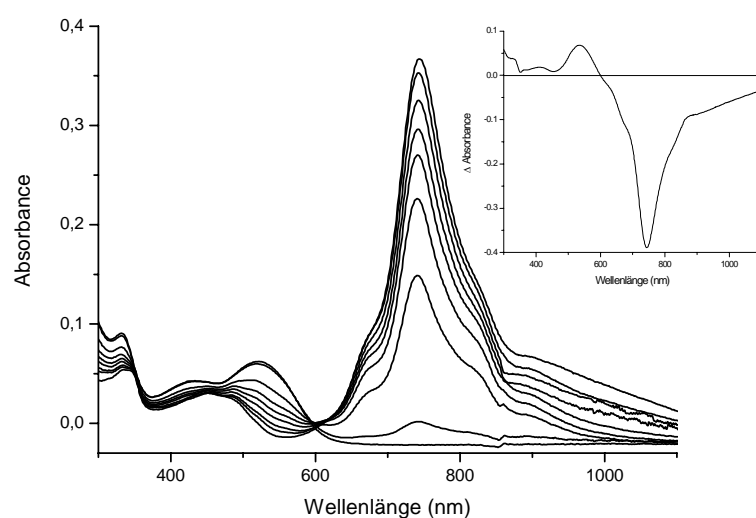


Abb. 4.6-19: Absorptionsspektrum von **56** während der zweiten Reduktion in DMSO, inset: Differenzspektrum.

Zur Interpretation der Absorptionsspektren nach der ersten und zweiten Reduktion, sollte die Struktur des Flavindimeres als ein System, das aus zwei Bausteine besteht, betrachtet werden. Es besteht aus einem „Uracil“- und einem „4,4'-Diaminostilbenteil“. (Abbildung 4.6-3) Diese Teile sind nach der Reduktion entkoppelt, das π -System ist verkleinert. Nach der ersten Reduktion entsteht eine neue Bande bei 730nm, die einem Dianion zugeordnet werden kann. Nach weiterer Reduktion entsteht ein Tetraanion. Ein

ähnliches Verhalten weisen Benzopteridine auf. Nach der zweiten Reduktion (zum Dianion) ergibt sich im Absorptionsspektrum eine neue sehr starke Bande bei 810nm, deren Form der Bande bei 730nm der Ethen-Flavindimere nach der ersten Reduktion (Dianion) ähnelt. Weitere Untersuchungen der Benzopteridine zeigen, dass die neue Spezies mit einer Absorption bei 810nm kein Radikal ist.^[79] Dieses Ergebnis lässt sich auf Ethen-Flavindimere übertragen und man kann vermuten, dass die Spezies mit der Absorption bei 730nm auch kein Radikal ist.

Die spektroelektrochemischen Untersuchungen der Ethen-Flavindimere **53** und **58** wurden in Methylenchlorid, Acetonitril und DMSO durchgeführt. Die Messergebnisse von **58** in Methylenchlorid zeigen, dass es sich wie ein Monomer verhält. Das Absorptionsspektrum nach der Reduktion ist mit dem Spektrum des jeweiligen Monomers nach der Reduktion identisch. (Abbildung 4.6-20) Da die vorherigen Untersuchungen zeigten, dass die erste Reduktion über einen Zweielektronenprozess verläuft, lässt sich daraus schließen, dass die Subeinheiten entkoppelt sind.

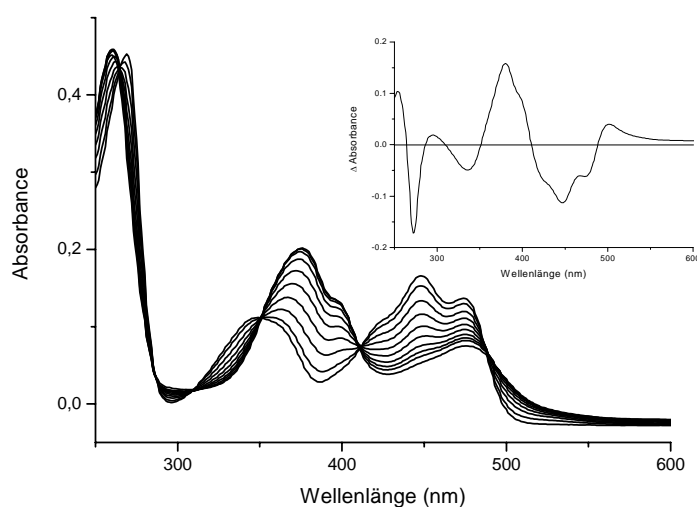


Abb. 4.6-20: Spektroelektrochemie von **58** in Methylenchlorid, inset: Differenzspektrum.

Die spektroelektrochemische Untersuchung von **58** in DMSO ergab neue Banden bei 360, 399, 497 mit einer Schulter bei 527nm, sowie eine neue Bande bei 730nm. (Abbildung 4.6-21) Die Bande bei 730nm ist jedenfalls dem Radikalanion des Ethen-Flavindimers zuzuordnen. Diese Beobachtung steht im Einklang mit den spektroelektrochemischen Untersuchungen der Monomere **50** und **55**, in denen diese Bande bei 730nm ebenfalls beobachtet wird. Eine Nebenreaktion des Radikalanions, die mit der Polarität des Lösungsmittels genauso wie die Dimerisierung von **50** und **55** zusammen-

hängt, wird vermutet. Die spektralen Daten der reduzierten Spezies sind in *Tabelle 4.6-2* aufgelistet.

| Verbindung (Solvens) | 1. Reduktion Absorptionsbanden (nm) | Isosbest. Punkte (nm) | 2. Reduktion Absorptionsbanden (nm) | Isosbest. Punkte (nm) |
|-----------------------------------|---|--------------------------------------|--|--------------------------------------|
| 49 (ACN) | 232↑, 252↑, 272↓, 295↑, 333↓, 375↑, 435↓, 464↓, 500↑ | 262, 283, 315, 351, 395, 485 | 250↑, 272↓ 292↑, 320↓, 368↓, 398↓, 444↓, 471↓ | 261, 278, 314 |
| 50^[83] (MC) | 259↑, 268↓, 343↓, 370↑, 444↓, 472↑ | 256, 343, 405, 82 | | |
| 50^[77] (ACN) | 257↑, 267↓, 343↓, 367↑, 392↑, 441↓, 473↑, 723↑ | 224, 256, 308, 343, 404, 485 | | |
| 51 (DMSO) | 332↑, 345↑, 394↓, 478↓, 500↓, 670↑, 737↑, 823↑, 894↑ | 354, 546 | 300↑, 341↑, 406↑, 535↑, 670↓, 737↓, 823↓, 894↓ | 604 |
| 52 (MC) | 261↓, 328↑, 342↑, 399↓, 478↓, 502↓, 666↑, 734↑, 818↑, 890↑ | 354, 545 | 254↓, 292↑, 369↑, 389↑, 488↓, 666↓, 734↓, 818↓, 890↓ | 272, 419 |
| 54 (ACN) | 233↑, 252↑, 270↓, 294↑, 335↓, 374↑, 439↓, 464↓, 498↑ | 261, 283, 315, 351, 399, 489 | 250↑, 270↓ 290↑, 322↓, 367↓, 394↓, 446↓, 472↓ | 260, 278, 314 |
| 55 (ACN) | 252↑, 269↓, 336↓, 374↑, 392↑, 440↓, 469↑, 723↑ | 224, 260, 310, 349, 404, 485 | | |
| 56 (DMSO) | 334↑, 382↓, 475↓, 508↓, 664↑, 744↑, 834↑, 898↑ | 355, 538 | 300↑, 332↑, 411↑, 535↑, 664↓, 744↓, 834↓, 898↓ | 601 |
| 57 (MC) | 267↓, 328↑, 346↑, 399↓, 483↓, 513↓, 668↑, 737↑, 818↑, 895↑ | 295, 359, 551, | 290↑, 325↑, 386↑, 529↑, 668↓, 737↓, 818↓, 895↓ | 587 |
| 58 (MC) | 253↑, 271↓, 295↑, 335↓, 379↑, 398↑, 420↓, 446↓, 475↓, 501↑ | 264, 286, 310, 351, 411, 489 | 253↑, 271↓ 295↑, 322↓, 379↓, 394↓, 446↓, 475↓ | 260, 278, 314 |
| 58 (DMSO) | 358↑, 445↓, 491↑, 670↑, 741↑, 826↑ | 409, 481 | 300↑, 358↓, 495↓, 741↓, | 328 |

Tabelle 4.6-2: Absorptionsmaxima und isosbestische Punkte der Flavindimere und -monomere nach der 1. und 2. Reduktion.

Nach der ersten Reduktion von **58** in DMSO ist das Absorptionsspektrum des Ethen-Flavindimers deutlich zu sehen. Während der zweiten Reduktion wird das gebildete Ethen-Flavindimer reduziert. Obwohl die Bande bei 730nm bei der zweiten Reduktion von Ethen-Flavindimeren verschwindet, nimmt sie in diesem Fall bloß leicht ab. (*Abbildung 4.6-22*) Nach der Rückoxidation entsteht das Absorptionsspektrum von Ethen-Flavindimer. Das heißt, es hatte eine Reaktion stattgefunden. Wieder tritt das Problem mit der Oxidation unter Reduktionsbedingungen (Dimerisierung von Monomer) auf. Ethan- und Ethen-Flavindimer unterscheiden sich in der Oxidationsstufe um zwei Elektronen, deswegen muss eine Oxidation stattfinden. Der Mechanismus dieser elektrochemischen Oxidation steht noch offen. Die gleichen Prozesse verlaufen in Acetonitril. Die Messergebnisse von **53** sind identisch mit den Beobachtungen für **58**.

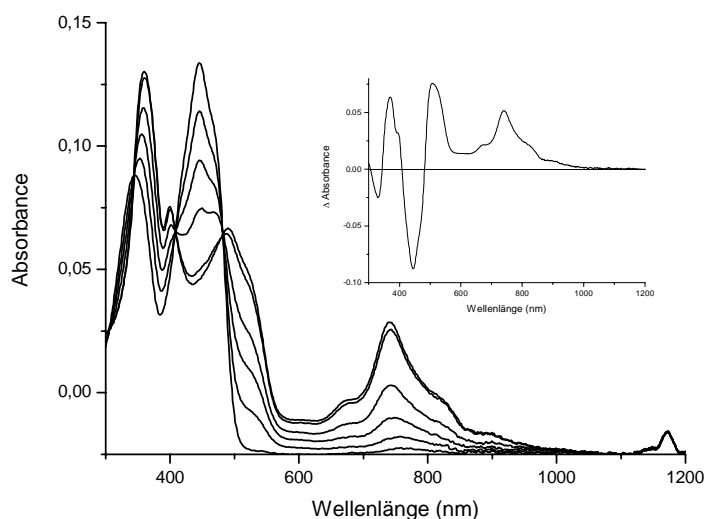


Abb. 4.6-21: Spektroelektrochemie von **58** in DMSO während der ersten Reduktion.

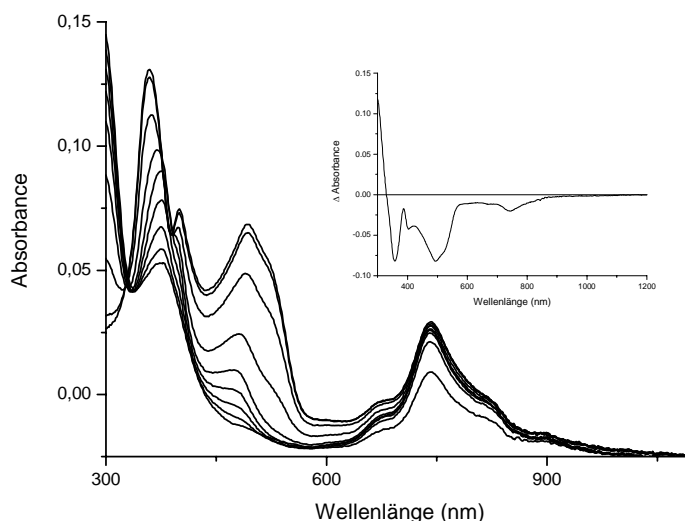
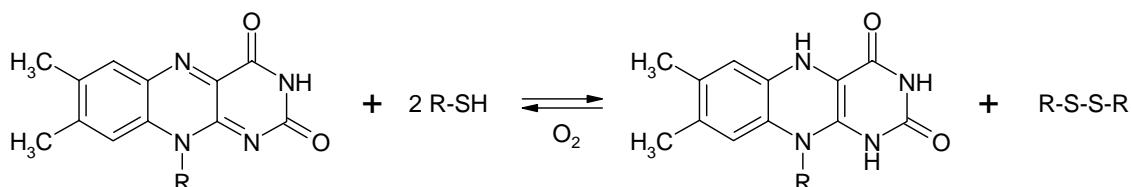


Abb. 4.6-22: Spektroelektrochemie von **58** in DMSO während der zweiten Reduktion.

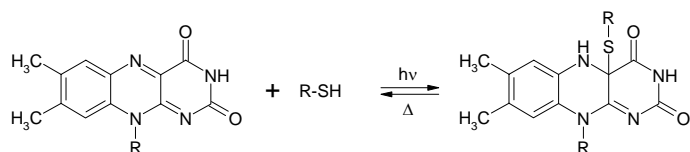
4.6.3 Reaktion von Flavindimeren mit Thiolen

Die Eigenschaft des Isoalloxazines eine Reduktion mit Thiolen einzugehen, wurde in den vergangenen Jahren gut erforscht. Isoalloxazine lassen sich mit Thiolen unter Sauerstoffausschluss leicht zu einem vollständig reduzierten Flavin in Gegenwart von einer Base chemisch reduzieren.^[84-88] (Schema 4.6-4)



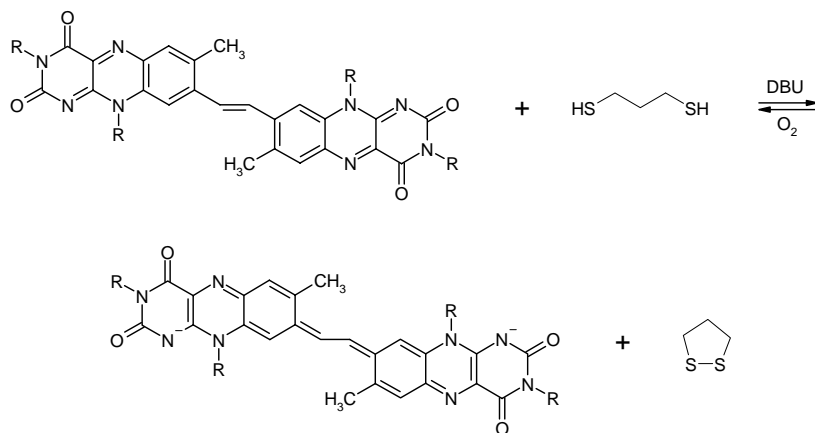
Schema 4.6-4: Reduktion von Flavin mit Thiol.

Die Reduktion kann auch photochemisch durchgeführt werden.^[89] Das vollständig reduzierte Flavin kann man durch Sauerstoff zum Ausgangsprodukt reoxidieren. Dieser katalytische Charakter des Isoalloxazins ist längst bekannt. Er gehört zu den wichtigsten Prozessen, die mit Flavin in der Natur ablaufen. *Dihydrolipoyl-Dehydrogenase* (FAD-FADH₂), *Glutathion-Reduktase*^[90], *Sulphid-Quinon-Reduktase*^[91] oder photochemisch induzierte C4a-Adduktbildung zwischen FMN und Cystein in Phototropin.^[92-104] (Schema 4.6-5)



Schema 4.6-5: Bildung von C4a-Addukt.

Die Reduktion von **56** mit Thiolen soll eine Aussage über den Reduktionsmechanismus liefern. Es wurde eine Reduktion von **56** mit 1,3-Propandithiol in Gegenwart von DBU und unter Sauerstoffausschluss in Acetonitril durchgeführt. Dieser Prozess wurde mit Hilfe von UV/Vis-Spektroskopie beobachtet. Nach der Zugabe von einer equimolaren Menge des Thiols entsteht eine neue sehr starke Bande bei 720 nm und die Absorption von **56** geht zurück. Dieser Prozess ist reversibel und nach Oxidation mit Luftsauerstoff bildet sich **56** zurück. (Schema 4.6-6)



Schema 4.6-6: Reduktion von Ethen-Flavindimer **56** mit 1,3-Propandithiol in Anwesenheit von DBU in Acetonitril.

Aus den Titrationsdaten wurde festgestellt, dass das Flavindimer **56** mit 1,3-Propandithiol im Verhältnis 1:1 reagiert. Das heißt, dass die Reduktion durch einen Zweielektronentransferprozess verläuft. Der Vergleich von UV Spektren des mit Thiol reduzierten und elektrochemisch reduzierten Flavindimeres hat ergeben, dass die Spektren im Bereich von 300 bis 1000nm identisch sind. (Abbildung 4.6-23 und 4.6-24)

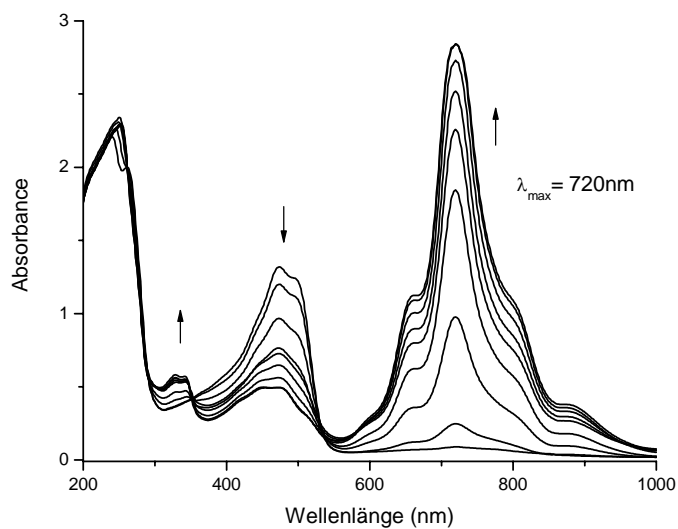


Abb. 4.6-23: Titration von **56** mit 1,3-Propandithiol in Acetonitril, in Anwesenheit von DBU.

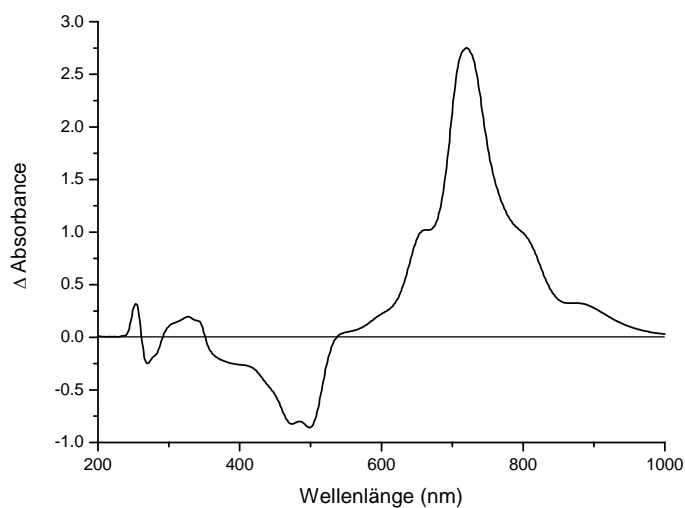


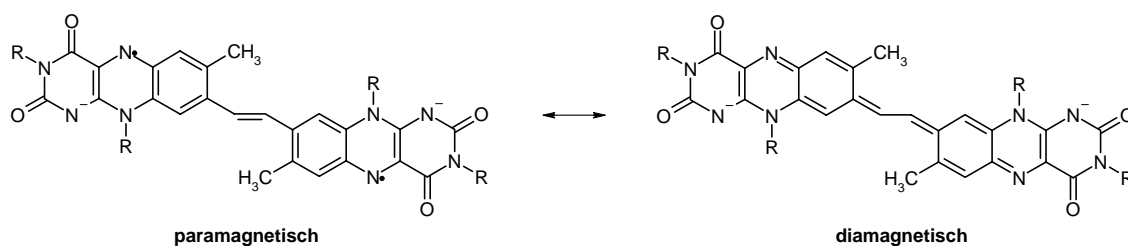
Abb. 4.6-24: Differenzspektrum der Titration von **56** mit 1,3-Propandithiol in Acetonitril.

Es konnte gezeigt werden, dass die elektrochemische und chemische Reduktion die gleichen Produkte liefern. Dadurch konnte eindeutig eine Zweielektronenreduktion festgestellt werden.

4.7 ESR-Spektroskopie der Flavindimere

Die ESR-Spektroskopie ist eine oft verwendete Methode zur Untersuchung der Flavinradikale und der biochemischen Prozesse, an denen Flavinradikale beteiligt sind.^{[3, 44, 58,}

69, 102, 105, 106] Der im *Schema 4.6-1* vorgeschlagene Mechanismus der Reduktion der Ethen-Flavindimere basiert auf einem Zweielektronenprozess. Im ersten Schritt entsteht ein Biradikal, die negative Ladung wird in den N(1)- bzw. N(1')Positionen stabilisiert und die freien ungepaarten Elektronen sind in den N(5)- bzw. N(5')Positionen lokalisiert. Zu dieser Struktur gibt es eine Resonanzstruktur, in der das Biradikal unter Entstehung einer neuen Doppelbindungsanordnung rekombiniert. (*Schema 4.7-1*) In diesem Falle ist die Mesomerie eigentlich ein Gleichgewicht zwischen einem paramagnetischen und einem diamagnetischen Zustand.



Schema 4.7-1: Zwei mögliche Rezonanzstrukturen nach der ersten Reduktion.

Die ESR-Untersuchungen der Flavindimere **57** und **58** und des Monomers **55** nach der Reduktion mit Kalium oder Zink in DME oder THF unter Stickstoffatmosphäre liefern schwache und unaufgelöste Signale beim gleichzeitigen Verfärben der Lösung zu tief grün (siehe Kapitel 4.6.2). (*Abbildung 4.7-1*)

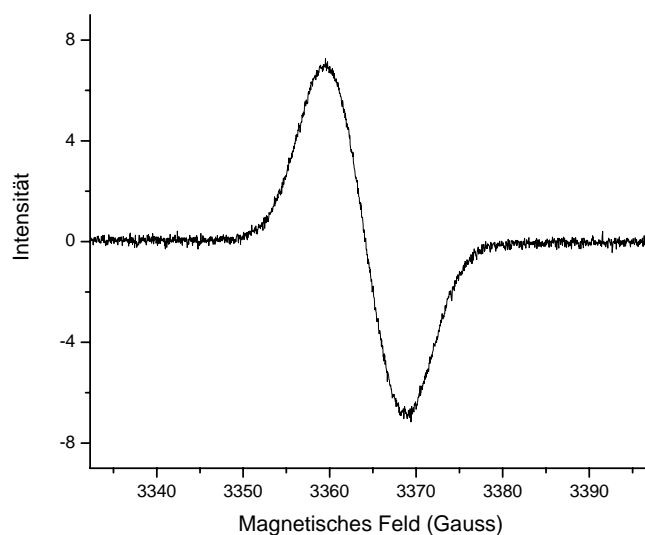
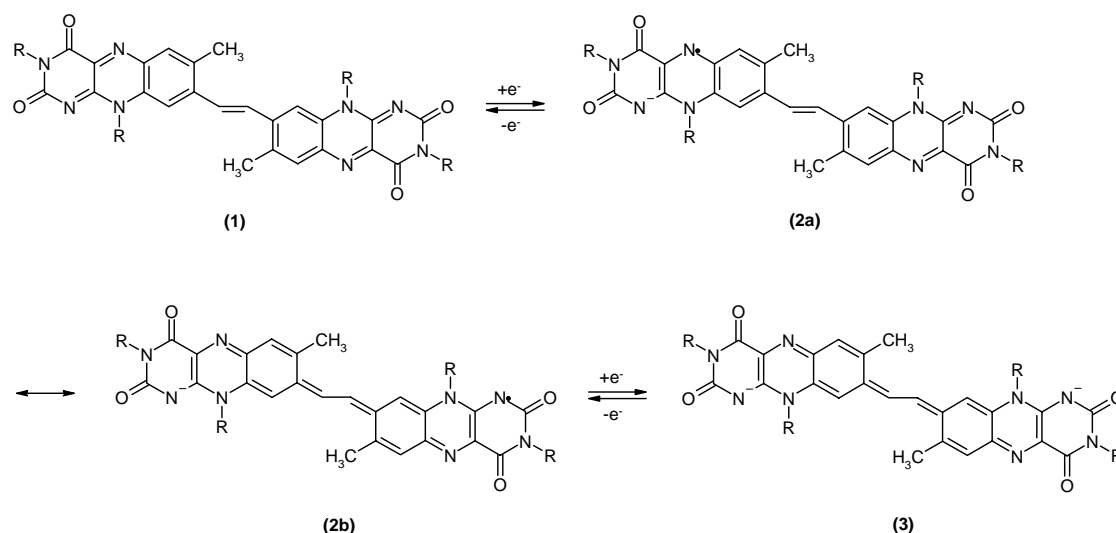


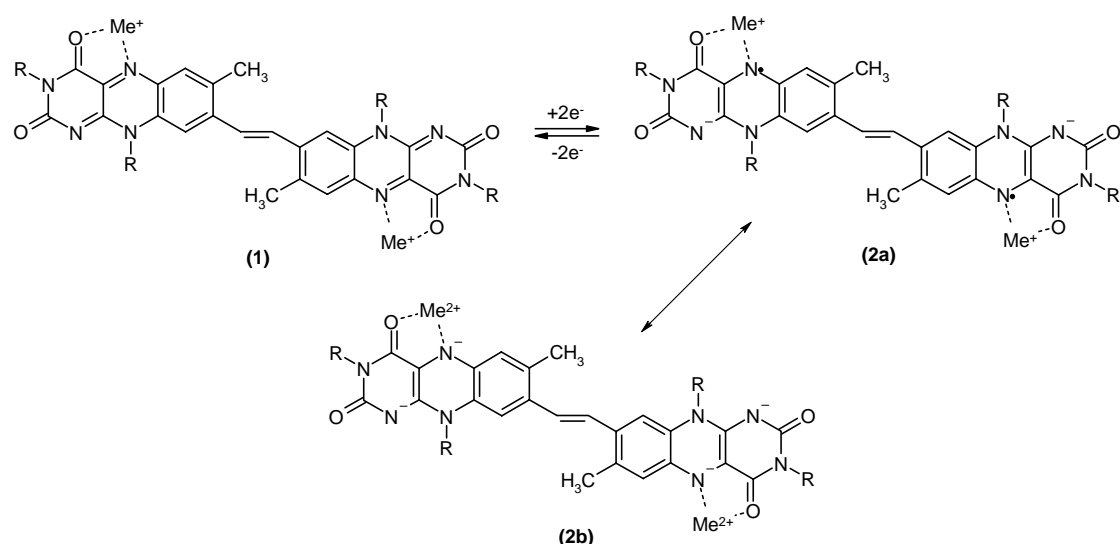
Abb. 4.7-1: ESR-Spektrum von **57** nach der Reduktion mit Kalium in DME, Parameter des Signals: Center Field= 3364,227Gauss, Microwave Frequency= 9,43831GHz, daraus ergibt sich der g-Wert= 2,0045.

Aufgrund der Signalschwäche war es nicht möglich eine ENDOR-Untersuchung durchzuführen, die eine Aussage über die Lokalisierung des freien ungepaarten Elektrons leisten könnte. Die niedrigen Signalintensitäten lassen sich durch das Gleichgewicht der Neutralverbindung (1) - Radikalanion (2a, 2b) - Biradikal \leftrightarrow Dianion (3) erklären. (Schema 4.7-2) Es ist durchaus möglich, dass unter ESR-Messbedingungen ein Einelektrontransfer verläuft. Da man die Reduktion nicht kontrollieren kann, synproportioniert das Flavindimerdianion (3) und die neutrale Form (1) bei der nicht vollständigen Umsetzung zu Flavindimerradikalanion (2b). Dafür spricht auch die Delokalisierung des freien ungepaarten Elektrons im gesamten π -System, was zu einem unaufgelösten Spektrum führt und die Aufnahme eines ENDOR-Spektrums erschwert. Ebenfalls stehen die Spektrenbreiten im Einklang mit den Spektrenbreiten für Radikalanionen. Hinweise auf Triplett-Dianionen (Biradikale) wurden nicht gefunden.



Schema 4.7-2: Gleichgewicht nach einer Einelektronenreduktion in ESR

Theoretisch bietet sich eine Komplexierung mit Metallen an der Hoogsten-Seite an, um den paramagnetischen Zustand des Flavindimers nach der ersten Reduktion zu stabilisieren. Komplexierungtauglich sind Metalle, die fähig sind, ein Elektron nach der Reduktion des Flavindimers abzugeben. Dazu eignen sich Cu⁺, Fe²⁺ u.v.a.^[54] (Schema 4.7-3)

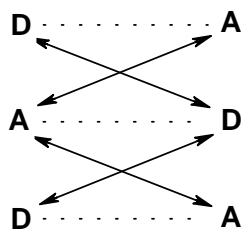


Schema 4.7-3: Stabilisierung des Paramagnetismus durch Komplexierung

4.8 Bindungsstudien der Flavindimere (nichtkovalente Wechselwirkungen)

4.8.1 Wasserstoffbrückenbildung

Ethen-Flavindimere **51** und **56** mit freier N(3)H-Gruppe bilden sehr einfach Wasserstoffbindungen. Generell sind diese Bindungen in mittelpolaren Lösungsmitteln wie Chloroform und Methylenchlorid wesentlich stärker als in Methanol, Aceton oder Essigsäureethylester. Aufgrund der geringen Löslichkeit von **51** in allen Lösungsmitteln (außer DMSO) beschränken sich die Bindungsstudien der Wasserstoffbrückenbildung auf das Ethen-Flavindimer **56**. Da ein zur Komplexierung taugliches Motiv A-D-A im Isoalloxazinkörper (Watson-Crick side) vorhanden ist, können Ethen-Flavindimere mit einem Rezeptor mit Motiven A-D oder D-A-D Wasserstoffbrücken bilden. Dank der doppelten Anzahl des Motivs im Dimer, hängt es vom ausgewählten Rezeptor ab, in welchem molaren Verhältnis sie sich zusammenbinden und welche Art der übergeordneten Struktur dargestellt wird. Eine Komplexierung mit einem bifunktionellen Rezeptor führt zu einem Oligomer bzw. Polymer. Es ist zu erwarten, dass die Dimerisierungskonstanten bei diesem Komplexierungsmotiv aufgrund der Abstoßungskräfte, welche in *Schema 4.8-1* dargestellt sind, im Bereich 10^2 - 10^3M^{-1} liegen werden.^[107] Die Bindungsstudien werden anhand NMR-Experimente und Absorptionsspektroskopie durchgeführt.



Schema. 4.8-1: Nichtkovalente Wechselwirkungen im DAD-ADA-Komplex (gestrichelt – Wasserstoffbrücken, voll – Abstoßungskräfte).

Die Bifunktionalität von Ethen-Flavindimer **56** kann dazu führen, dass die Dimere miteinander komplexieren und ein Oligomer bzw. Polymer bilden. (Schema 4.8-2) Tatsächlich tritt die Polymerisierung schon bei einer Konzentration 10mg/1ml CDCl₃ auf und erschwert dann Bindungsstudien mit Rezeptoren. Die Polymerisierung lässt sich mit Hilfe der NMR-Technik beobachten. Die Lösung von 10mg **56** in 1ml CDCl₃ zeigt ein unaufgelöstes Spektrum mit breiten Linien. Dagegen zeigt das Spektrum von 1mg in 1ml CDCl₃ aufgelöste Signale. Für die Messung wird aber ein empfindlicheres Gerät (600MHz) benötigt. Zur Bestimmung der Dimerisierungskonstante K_{dim} von **56** wurde eine Verdünnungsreihe vermessen. Eine Verschiebung vom N(3)-Proton im ¹H-NMR-Spektrum wurde beobachtet. Durch das Fitten der Titrationkurve nach Gleichung 4-2^[48] konnte die Dimerisierungskonstante K_{dim} von **56** in Chloroform bestimmt werden. Sie beträgt 30M⁻¹. In Folge dessen wird die Komplexbildung mit Rezeptoren bei der Konzentration 1mg von **56** in 1ml CDCl₃ durchgeführt.

Gleichung 4-2:
$$\delta_{obs} = \delta_m + \frac{\delta_{dim} - \delta_m}{c} \left(c + \frac{1}{4K_{dim}} - \sqrt{\left(c + \frac{1}{4K_{dim}} \right)^2 - c^2} \right)$$

c ... Konzentration

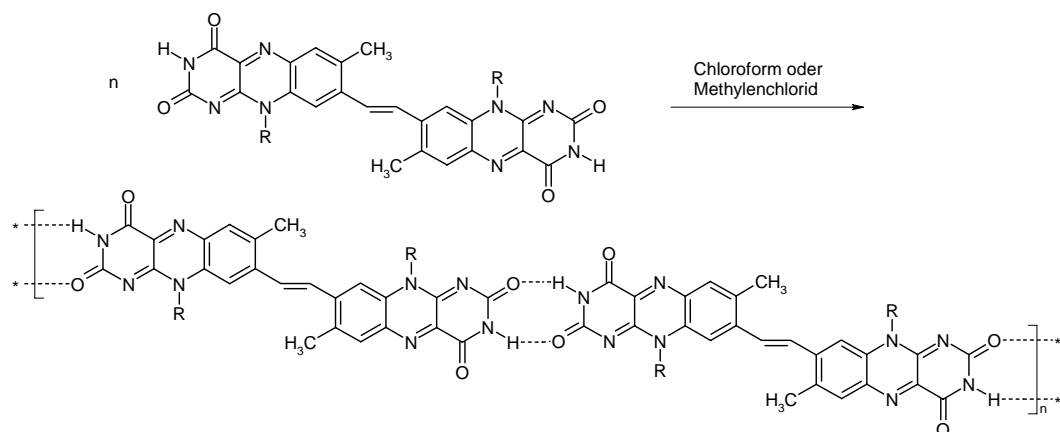
K_{dim} ... Dimerisierungskonstante

δ_{obs} ... beobachtete Verschiebung

δ_m ... Verschiebung von Monomer

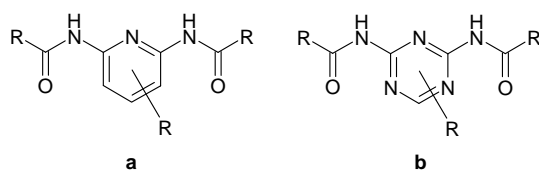
δ_{dim} ... Verschiebung von Komplex

Die Dimerisierungskonstante von **56** ist sehr wichtig für die folgenden Messungen mit Rezeptoren, weil die Polymerisierung ein kompetitiver Prozess zu der Wasserstoffbildung zu einem Rezeptor darstellt und die Konstante eigentlich in Betracht gezogen werden muss.



Schema 4.8-2: Polymerisierung von Ethen-Flavindimeren.

Als Rezeptoren wurden Moleküle mit DAD-Motiv ausgewählt.^[43, 44] Zu dieser Klasse gehören Derivate von 2,4-Diamino-1,3,5-triazin und 2,6-Diaminopyridinderivate. (Schema 4.8-3). Die Stärke der Donor-Akzeptor-Bindung lässt sich durch die Substituenten am Rezeptor steuern. Generell sind die Triazinrezeptoren starke Elektronakzeptoren und werden in der supramolekularen Chemie zur Wasserstoffbrückenbildung seit langem verwendet.^[14, 48, 49, 108-111]



Schema 4.8-3: Verwendete Rezeptoren- a: 2,6-Diaminopyridinderivat; b: 2,4-Diamino-1,3,5-triazinderivat.

Genauso wie beim Ethen-Flavindimer **56** dimerisieren auch die Rezeptoren in Lösung miteinander und die Dimerisierungskonstante K_{dim} muss bestimmt werden.

Komplexierung mit Hamilton Rezeptor^[112] (HR)

Die Bindungsstudie der Komplexierung mit Hamilton Rezeptor basiert auf der ^1H -NMR-Titration. Die Messergebnisse liefern die Erkenntnisse über die Stärke der Wasserstoffbindungen (Titrationskurve) und über die Stöchiometrie der supramolekularen Struktur (Job-Plot). Durch das Fitten der Titrationskurve nach Gleichung 4-3^[48] ergab sich die Assoziationskonstante $K_a = 220\text{M}^{-1}$. (Abbildung 4.8-1)

Gleichung 4-3:

$$c_r^0 = \left(\frac{\delta_{obs} - \delta_m}{\delta_{kom} - \delta_m} \right)^3 c_{Fl}^0 + \left(\frac{\delta_{obs} - \delta_m}{\delta_{kom} - \delta_m} \right)^2 \left(\frac{2K_{dim}}{K_a^2} - \frac{1}{K_a} - c_r^0 - 2c_{Fl}^0 \right) + \frac{\delta_{obs} - \delta_m}{\delta_{kom} - \delta_m} \left(\frac{1}{K_a} + c_{Fl}^0 + 2c_r^0 \right)$$

- c_r^0 ... gesamte Konzentration vom Rezeptor
 c_{Fl}^0 ... gesamte Konzentration vom Ethen-Flavindimer **53**
 K_{dim} ... Dimerisierungskonstante des Rezeptors
 K_a ... Assoziationskonstante
 δ_{obs} ... beobachtete Verschiebung
 δ_m ... Verschiebung von Monomer
 δ_{kom} ... Verschiebung von Komplex

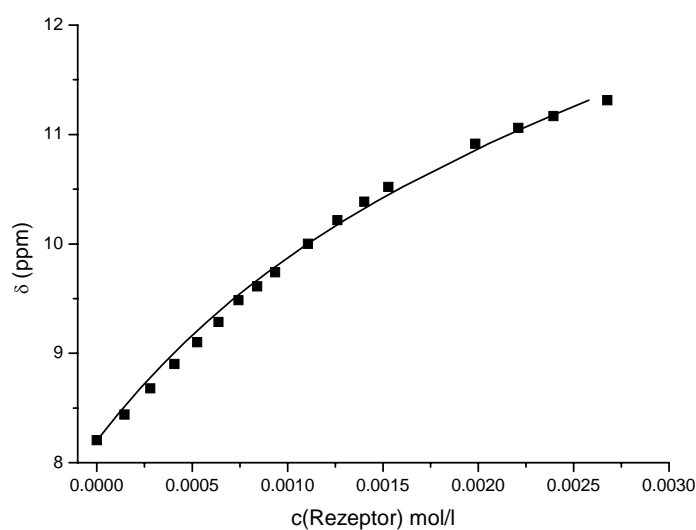


Abb. 4.8-1: ^1H -NMR-Titrationskurve von **56** mit Hamilton Rezeptor.

Der Job-Plot^[113] liefert die Aussage über die Stöchiometrie des entstandenen Komplexes. Bei Auftragung der Abhängigkeit vom Molenbruch gegen Veränderung der Verschiebung ergibt sich eine Kurve mit einem Maximum. Die Position des Maximums entspricht der Stöchiometrie nach Gleichung 4-4.

Gleichung 4-4: $X = b/(b+a)$

X ... Molenbruch von X in P_aX_b

a, b ... stöchiometrische Koeffizienten

Erwartungsgemäß liegt das Maximum für den Komplex HR-**56** bei 0,645 und daraus ergibt sich das Bindungsverhältnis 2:1. (Abbildung 4.8-2 und Schema 4.8-4)

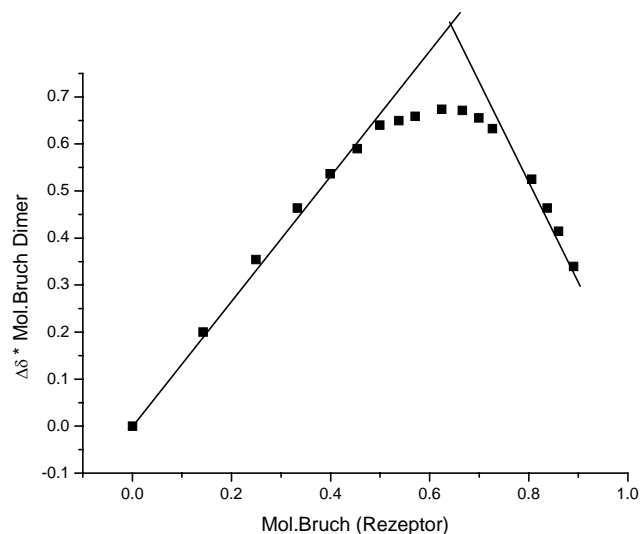
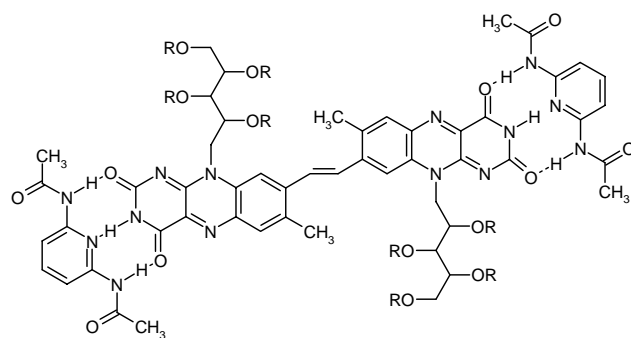


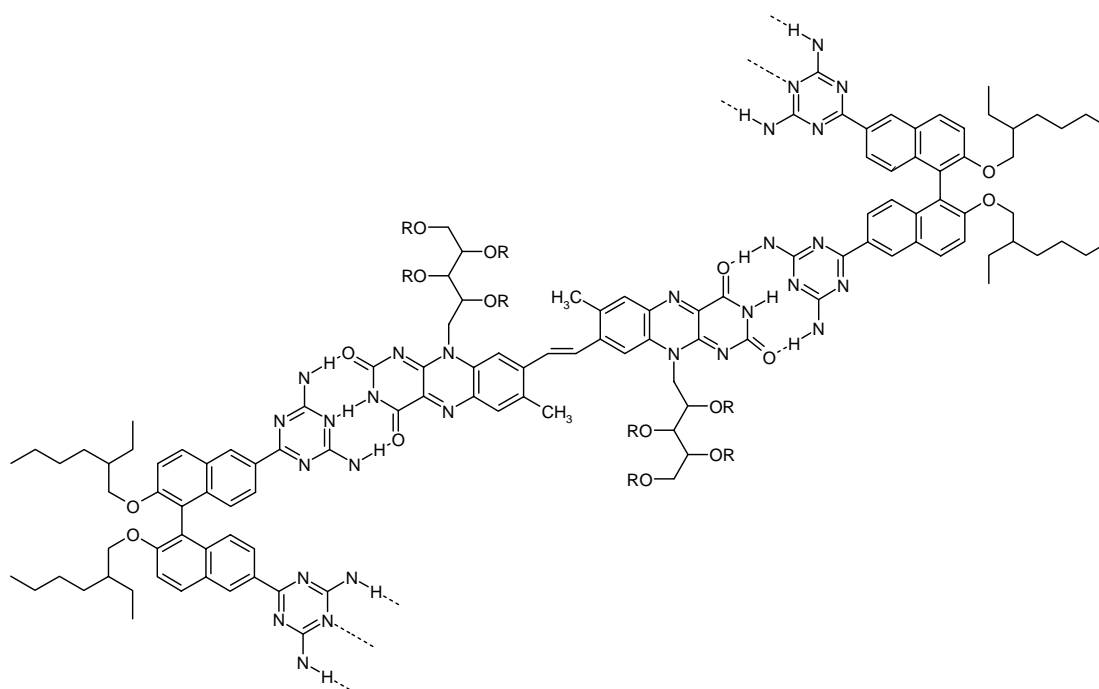
Abb. 4.8-2: Job-Plot der ^1H -NMR-Titration von **56** mit Hamilton Rezeptor.



Schema 4.8-4: Komplexierung von **56** mit Hamilton Rezeptor.

Komplexierung mit S-61

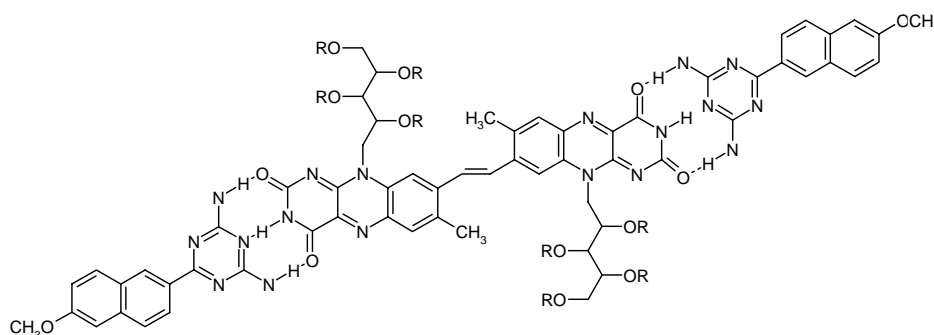
Die Bindungsstudie von **S-61** mit **56** wurde mit Hilfe der ^1H -NMR-Technik durchgeführt. **S-61** ist ein bifunktioneller Rezeptor. Die Komplexierung mit **56** geschieht in diverser Stöchiometrie, weil oligomere Strukturen gebildet werden. Deswegen müssen die Konstanten mit einem Model bestimmt werden, das die Berechnungen vereinfacht. Ein geeignetes Model geht davon aus, dass sich Komplexe mit Stöchiometrie 1:1 bilden.^[114] Aus der Auswertung der Messergebnisse mittels Job-Plot, der kein Modell zur Stöchiometriebestimmung verlangt, ergab sich tatsächlich die Stöchiometrie **S-61:56** (1:1). (Schema 4.8-5) Die Ergebnisse sind in *Tabelle 4.8-1* zusammengefasst.



Schema 4.8-5: Komplexierung von **56** mit **S-61**.

Komplexierung mit 64

Die Untersuchung der Komplexierung mit **64** geschieht wie in vorherigen Fällen mit Hilfe von ^1H -NMR. Die Auswertung der Messergebnisse liefert die Aussage über das Bindungsverhältnis und die Assoziationskonstante K_a . Die Stöchiometrie dieses Komplexes **64-56** ist 1:2. Die Assoziationskonstante K_a beträgt 253M^{-1} und ist damit im Vergleich zu den Assoziationskonstanten der HR-**56** oder **S-61-56** Komplexe genauso stark.



Schema 4.8-6: Komplexierung von **56** mit **64**.

In *Tabelle 4.8-1* sind die Dimerisierungskonstanten K_{dim} der Rezeptoren, die Assoziationskonstanten K_a und die Stöchiometrie der gebildeten Komplexe aufgelistet.

| <i>Rezeptor</i> | $K_{dim} (M^{-1})$ | $K_a (M^{-1})$ | <i>Stöchiometrie Rezeptor:56</i> |
|-----------------|--------------------|----------------|--------------------------------------|
| 56 | 30 ± 5 | - | 1:1 |
| Hamilton | 30 ± 3 | 220 ± 14 | 1:2 |
| S-61 | 855 ± 155 | 780 ± 93 | 1:1 |
| 64 | 18 ± 7 | 253 ± 31 | 1:2 |

Tabelle 4.8-1: Dimerisierungskonstanten der Rezeptoren und deren Assoziationskonstanten mit **56** in Chloroform.

Der Rezeptor mit der höchsten Bindungskonstante ist der Bis(triazinyl)binaphtyl-Rezeptor **S-61**. Der Vorteil dieses Rezeptors liegt in der Bifunktionalität, genauso wie beim Ethen-Flavindimer **56**. Es wurde vorausgesetzt, dass ein Komplex im Verhältnis 1:1 gebildet wird. Tatsächlich handelt sich um eine supramolekulare Polymerisation und die Endstruktur des Komplexes hat die Form eines Oligomeres bzw. Polymeres.^[107, 115] Die Form des supramolekularen Polymeres ist von der Struktur des Rezeptoren abhängig. 1,1'-Binaphtylderivate können die Bildung einer helikalen Konformation des Komplexes induzieren. Je nach der Größe des Winkels zwischen den Naphtyleinheiten, wird P-Helix (für $0^\circ < \theta < 90^\circ$, entspricht (R)-1,1'-Binaphtyl) oder M-Helix (für $90^\circ < \theta < 180^\circ$, entspricht (R)-1,1'-Binaphtyl).^[116] Leider ist die Komplexierung zu schwach, um eine Messung der CD-Spektren durchzuführen. Die Konzentration, bei der die Komplexierung beobachtet werden kann, ist zu hoch für die CD-Untersuchungen, mit denen die Struktur des Komplexes erläutert werden könnte.

Zusätzlich wurde eine Untersuchung mit einem linearen bifunktionellen Rezeptor **PCT 245** (*Abbildung 4.8-3*) durchgeführt, der von Ch. Trieflinger, Universität Regensburg zur Verfügung gestellt wurde. Dieser Rezeptor weist keine Veränderung im ^1H -NMR-Spektrum auf.

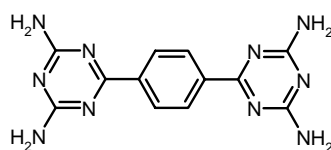


Abb. 4.8-3: Lineares bifunktionelles Rezeptor **PCT 245** auf Basis von 2,4-Diamino-1,3,5-triazin.

Strukturell sind in diesem Rezeptor zwei Triazinyl-Einheiten verbunden, die sich aber so stark elektronisch beeinflussen, dass es eine Auswirkung auf die Wasserstoffbrückenbildung hat und die Assoziationskonstante nicht bestimmt werden konnte.

4.8.2 Metallkomplexierung

In der Literatur wurden viele Arbeiten über die Komplexierung von Metallen mit Isoalloxazin bzw. Riboflavinderivaten veröffentlicht.^[51-60, 117] Die Metallkomplexierung von Flavin spielt eine wichtige Rolle in Elektrontransferprozessen und der Bildung des Flavinsemiquinons in der Natur. Es wurden verschiedene Interaktionen von FMN gefunden, wie z.B. die Interaktion Häm-Flavin oder direkt Metalloflavoenzyme, die Metallzentren beinhalten und sich an intramolekularen Elektronentransferprozessen beteiligen. Flavin in Metalloflavoenzymen wie *Succinat-Dehydrogenase*, *NADH-Dehydrogenase* oder *Xanthin-Oxidase* reagiert mit Metallen und katalysiert die Reaktion in einem beliebigen Schritt. Der Mechanismus vom Elektrontransferprozess in der *Xanthin-Oxidase* (involviert im Abbau der Nukleotide) ist bekannt und verläuft folgendermaßen: vom Molybdän zu Flavin und weiter zum Eisen-Schwefel-Cluster.^[118] Generell zeigen Flavinmetallkomplexe eine negative Verschiebung des Potentials. Das geschieht aufgrund der Bindung zwischen N(5) und Metall. Durch die Komplexierung erhöht sich die Elektronendichte in der N(5)-Position. Die Donation des Elektrons findet vom besetzten d-Orbital des Metalles in den π^* -Orbital des Ligandes (N(5)-Position) statt. Bei der Reduktion ist es dann schwieriger, ein weiteres Elektron aufzunehmen.^[57] Aus dem gleichen Grunde verschieben sich die π - π^* -Übergänge bathochrom. Die Bindung eines Elektrophils an dieser Position tendiert zum Stabilisieren des π^* -Zustandes. Und weil das N(1) weniger attraktiv für Wasserstoffbrückenbindungen wird, verschiebt sich der n- π^* -Übergang auch bathochrom.^[55] Durch die Komplexierung wurden stabile Salze gebildet. Wie es schon im Kapitel 4.1.3 angesprochen wurde, bindet Isoalloxazin die meisten Metallionen an der „Hoogsten side“, N(5)-C(4)O-Position. Eine Ausnahme stellt Zn^{2+} dar, das die Bindung an der C(2)O-Position bevorzugt. Die Metallkomplexierung stellt für Flavindimere, insbesondere für Ethen-Flavindimer eine Möglichkeit zum Aufbau einer supramolekularen Struktur und die Untersuchung ihrer elektronischen Eigenschaften dar.

Komplexierung von **56** mit Metallionen

Die Komplexbildung mit Ag^+ geschieht bei Flavinmonomeren in diverser Stöchiometrie. Es wurden Komplexe der Stöchiometrie 1:1^[51] aber auch 1:2^[52, 59] nachgewiesen. Die Bindungsstudien kann man mit Hilfe der ^1H -NMR-Technik oder durch Beobachtung der Veränderung im Absorptionsspektrum bestimmen. Die Assoziationskonstante K_a , die für **49** in Aceton durch diese beiden Methoden bestimmt wurde, beträgt 1200M^{-1} mit einem Bindungsverhältnis von zwei Flavinliganden mit einem Silberion.^[53]

Die Komplexbildung von Ethen-Flavindimer **52** mit Ag^+ wurde mit Hilfe von Absorptionsspektroskopie durchgeführt. Bei der Titration der Lösung von **52** in Aceton mit AgClO_4 wurde eine bathochrome Verschiebung der längerwelligsten Absorptionsbande beobachtet. Durch die Auftragung der Veränderung der bei einer bestimmten Wellenlänge zu der Konzentration des AgClO_4 wurde eine Titrationskurve erstellt. (Abbildung 4.8-4)

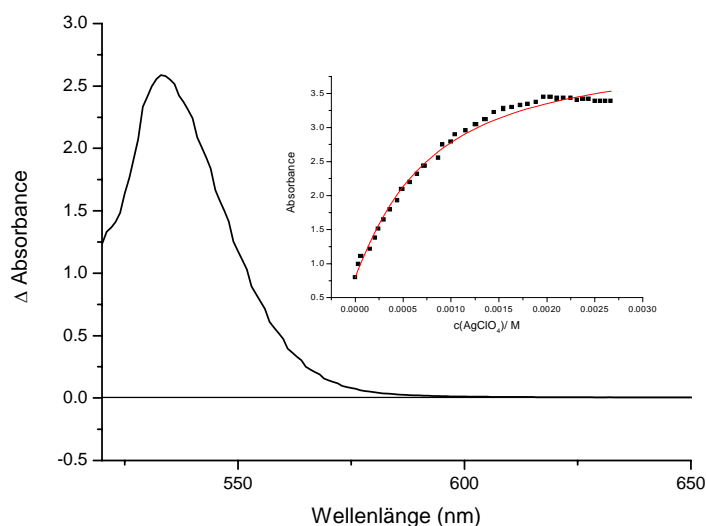


Abb. 4.8-4: Differenzspektrum nach der Titration von **52** in Aceton mit AgClO_4 ; inset: Titrationskurve.

Die Auswertung der Messergebnisse und die Bestimmung der Assoziationskonstante K_a nach Gleichung 4-5 ermöglicht die Methode der kontinuierlichen Variation.^[119]

Gleichung 4-5:
$$K_a = \frac{[PX_n]}{([P]_0 - [PX_n])([X]_0 - n[PX_n])}$$

K_a ...Assoziationskonstante

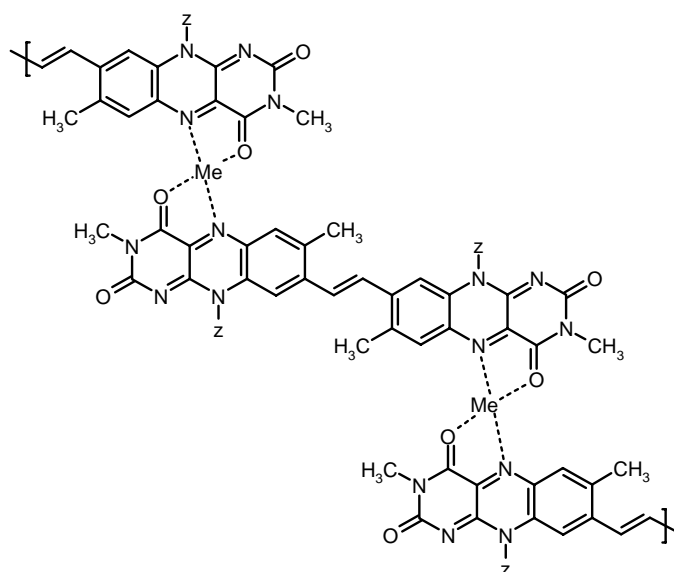
$[P]_0$...Anfangskonzentration des Dimers

$[X]_0$...Anfangskonzentration des Metalliones

$[PX_n]$...Konzentration des Komplexes

n ... stöchiometrischer Koeffizient

Die Aussage über die Stöchiometrie des gebildeten Komplexes liefert der Job-Plot. Die Assoziationskonstante K_a beträgt 1178M^{-1} und die Stöchiometrie liegt im Verhältnis ein Silberion zu zwei Monomeren. Aus der doppelten Anzahl der Monomere im Molekül lässt sich das tatsächliche Verhältnis 1:1 (ein Silberion mit einem Dimer unter einer Oligomerenbildung) ableiten. (Schema 4.8-7)



Schema 4.8-7: Komplexierung der Ethen-Flavindimere mit Metallen.

Es wurden Komplexierungsstudien von **57** mit verschiedenen Metallionen durchgeführt, dessen Ergebnisse in *Tabelle 4.8-2* zusammengefasst sind.

| <i>Kation</i> | Cu^{2+} | Ag^+ | Cu^+ | Ni^{2+} | Mg^{2+} | Cd^{2+} | Li^+ | Eu^{2+} |
|----------------------|------------------|---------------|---------------|------------------|------------------|------------------|---------------|------------------|
| λ (nm) | 521 | 533 | 534 | 539 | 529 | 521 580sh | 528 | 541 |
| $K_a(\text{M}^{-1})$ | 1035 | 1178 | 948 | 1147 | 789 | 874 | 456 | 785 |

Tabelle 4.8-2: Absorptionsmaxima und Assoziationskonstanten der Komplexe von **57** mit verschiedenen Metallionen in Aceton.

Komplexierung von 58 mit AgClO_4

Unter Zugabe von AgClO_4 in Aceton zur Dimerlösung wurde eine spektrale Änderung beobachtet. (Abbildung 4.8-5)

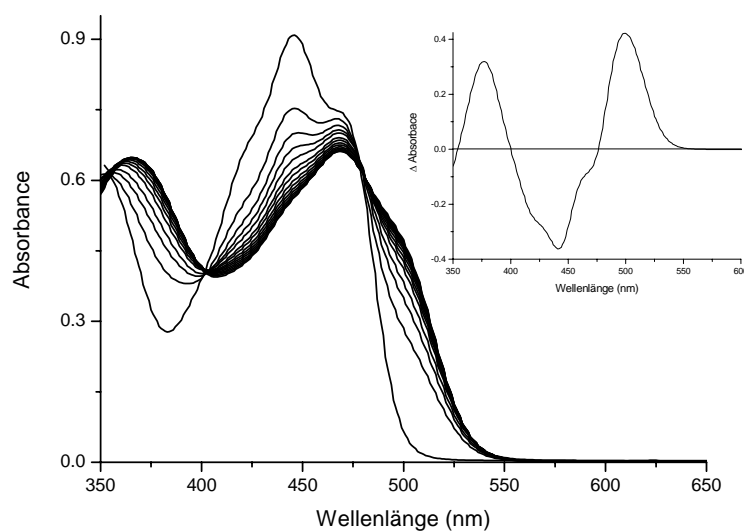


Abb. 4.8-5: Veränderung des Absorptionsspektrums während Titration von **58** mit AgClO₄ in Aceton; inset: Differenzspektrum.

Durch das Auswertung der Messergebnisse konnte die Assoziationskonstante K_a bestimmt werden. Sie beträgt $961,53\text{M}^{-1} (\pm 40)$, was mit dem Wert der Assoziationskonstante des 2',3',4',5'-Tetraacetylriboflavines **49**, der in der Literatur gefunden wurde, übereinstimmt und auf eine Komplexierung von einem Silberion mit zwei Monomeren hindeutet. In diesem Fall ist der Komplexierungsmuster 1:1. (Abbildung 4.8-6)

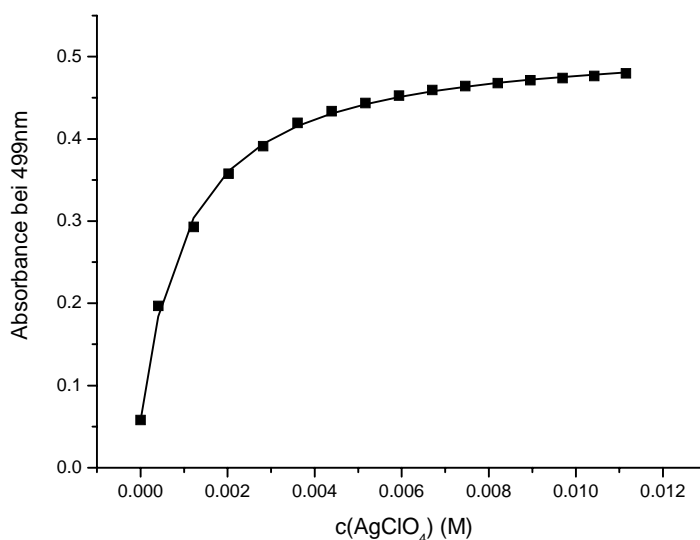
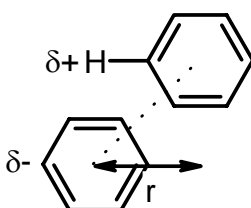


Abb. 4.8-6: Titrationskurve der Titration von **58** mit AgClO₄ in Aceton.

4.8.3 Aggregation mittels π - π -elektronischer Wechselwirkungen („ π - π stacking“)

Wechselwirkungen zwischen Arenringen liefern einen essenziellen Beitrag zur Struktur biologischer Makromoleküle wie DNA und Proteine, sowie zu deren Wechselwirkung mit kleinen Molekülen. Obwohl diese Wechselwirkungen als schwach eingestuft werden, spielen sie eine wichtige Rolle bei der Faltung und thermischen Stabilität von Proteinen. Stapelwechselwirkungen sind bei der gegenseitigen Anordnung von Porphyrineinheiten in Wasser oder im Inneren von Proteinen, sowie an der Bindung der Carotenoiden im lichtsammelnden Komplex („light-harvesting-complex“) beteiligt.^[120-122] Als überwiegend auftretende und bevorzugte Anordnung der Arenringe wurde die parallel-verschobene „Edge-to-Face“ Form gefunden. (Schema 4.8-8) Es ist schon lange bekannt, dass zwei aromatische Partner, der eine mit stark elektronschiebenden, der andere mit stark elektronziehenden Gruppen – parallele Stapelkomplexe sowohl in Lösung als auch häufig in der Festphase bilden. Die dabei resultierende Struktur wird zu einem großen Anteil durch Molekülorbitalwechselwirkungen bestimmt (CT-Komplexe). Der Ladungstransfer trägt nur gering zur Stabilisierung des Grundzustandes bei, ist aber im angeregten Zustand sehr effizient. Da anziehende elektrostatische Wechselwirkungen zwischen Atomen mit entgegengesetzten Partialladungen häufig die Abstoßung zwischen gefüllten π -Elektronenschalen aufheben, treten π - π -Stapelwechselwirkungen vermehrt bei heterocyclischen π -Systemen auf.^[44]



Schema 4.8-8: π - π -Stacking von Benzol, r-Lateralverschiebung.

Der Aufbau der DNA-Duplexstrukturen wird vorwiegend durch eine H-Brückenvermittelte Nukleobasenpaarung, durch eine parallel-verschobene Basenstapelung in einem vertikalen Basenabstand von 3,4 Å, durch die Basensequenz, die Konformation der Zuckerhauptkette, hydrophobe Effekte und vermutlich durch spezifische Solvatationsmuster in der kleinen und großen Furchen bestimmt. Energetisch günstige Kontakte zwischen H-Brücken-Donoren und aromatischen Ringen werden als π -Wasserstoffbrücken bezeichnet; sie sind schwächer als klassische H-Brücken. Einige

Systeme zeigen Wechselwirkungen der NH- oder OH-Gruppe mit dem π -System. Ein Beispiel für eine O-H/ π -Wasserstoffbrücke in Proteinen liefert der Komplex des Enzyms *Glutathion-Transferase* mit Glutathion, bei dem die Seitenkette von Thr13 auf die aromatische Fläche von Tyr6 gerichtet ist. Diese Wechselwirkung senkt den pK_s -Wert der Tyr-OH-Gruppe und erhöht damit die Fähigkeit, Wasserstoffbrücken mit der HS-Gruppe von GSH zu bilden, wodurch ihre Reaktivität beeinflusst wird.^[123]

Aus der Literatur ist bekannt, dass Flavine sehr oft Komplexe durch „ π - π stacking“ bilden und dieser Prozess in der Natur eine sehr wichtige Rolle spielt.^[124, 125] Dieses Verhalten hat besondere Bedeutung in Proteinen, in denen Flavin mit einem Reaktionspartner einen π - π -Komplex bildet. Die meisten Komplexe werden mit den Aminosäuren gebildet, die einen aromatischen Ring besitzen, damit die π - π -Wechselwirkung stattfinden kann. Zu den am meisten untersuchten Prozessen, wegen seiner Wichtigkeit im Organismus, gehört die Redoxreaktion der *Glutathion-Reduktase*, an der FMN und NADH unter Bildung eines π - π -Komplexes beteiligt sind. In diesem ein π - π -Komplex findet die eigene Redoxreaktion statt.^[1, 61, 88, 90, 126] An vielen biochemischen Elektrontransferprozessen beteiligen sich auch die Aminosäuren Tyrosin (z.B. in *L-Lactat-Oxidase*) und Tryptophan (z.B. in *Phenol-Hydroxylase*), die mit Flavin einen π - π -Komplex bilden.^[127-130] Die gegenwärtigen spektroskopischen und Konformationsuntersuchungen zeigen, dass der Indolring mit dem pyrimidinoiden und dem pyrazinoiden Teil des Isoalloxazins stärker interagiert, als mit dem benzenoiden Teil. Durch diesen Prozess lassen sich die elektrochemischen Eigenschaften des Flavins, genauso wie durch die Wasserstoffbrückenbildung beeinflussen.^[43]

Das π - π -stacking von Flavinen (Dimerisierung) wurde weniger untersucht, da diese Wechselwirkung nur eine sehr kleine Veränderung im Absorptionsspektrum ausübt und erst bei hohen Konzentrationen beobachtet wird. Im Absorptionsspektrum nimmt die Bande bei 450nm leicht ab und wird insgesamt breiter. Erst im Differenzspektrum wird die neue Bande sichtbar. Die Maxima vom Dimer liegen bei 498, 395 und 350nm.^[6, 125, 131]

Nach der Zugabe von einem unpolaren Lösungsmittel zu der Lösung von Ethen-Flavindimer **56** in Methylenchlorid entsteht eine neue Bande mit einem Maximum bei 562nm. (*Abbildung 4.8-7 und 4.8-8*) Sie ist im Vergleich zum Absorptionsspektrum in Methylenchlorid bathochrom verschoben, und nach der Definition aus der Literatur handelt es sich bei dieser bathochromen Verschiebung um eine so genannte J-

Aggregation. Die Komplexierung des Flavindimers **56** lässt sich leider nur bis zu einem bestimmten Volumen von n-Hexan in Methylenchlorid beobachten. Wenn diese Grenze überschritten wird, ist das Flavindimer nicht mehr löslich und fällt als Niederschlag aus.

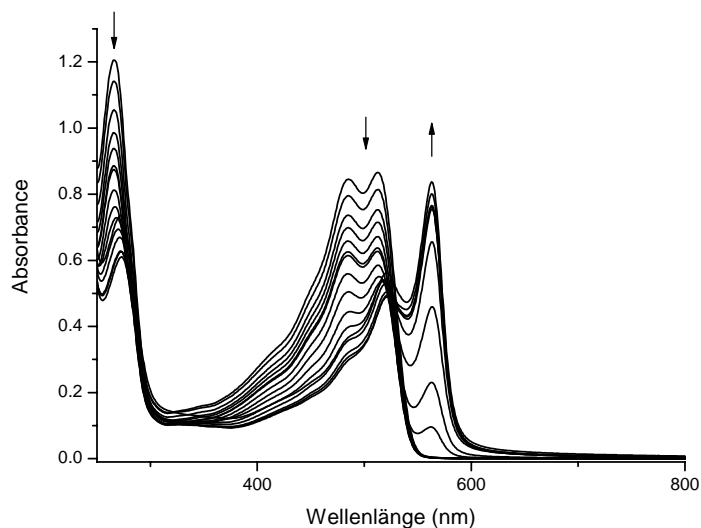


Abb. 4.8-7: Titration von **56** mit n-Hexan, $c_0 = 1,68 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, ohne Verminderung des Verdünnungseffektes.

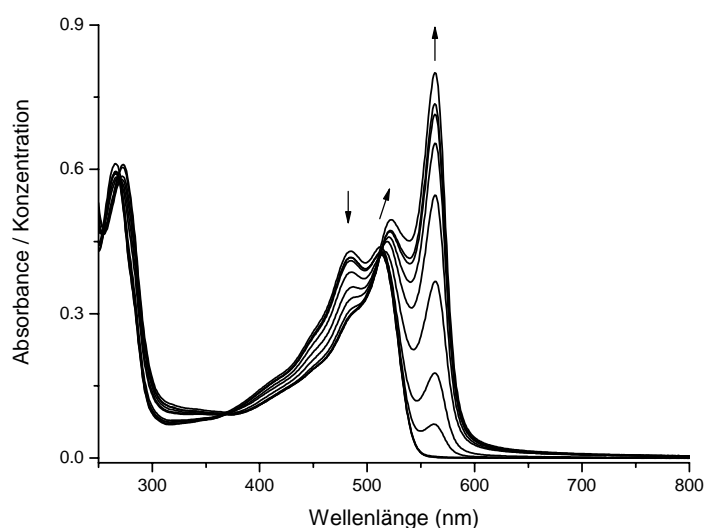


Abb. 4.8-8: Titration von **56** mit n-Hexan mit Verminderung der Verdünnung.

Die Anordnung der einzelnen Moleküle im J-Aggregat lässt sich durch die Berechnung des Gesamtübergangsdipolmoments aus den Übergangsdipolmomenten der Moleküle bestimmen. Die berechnete Anordnung ist in *Abbildung 4.8-9* dargestellt.

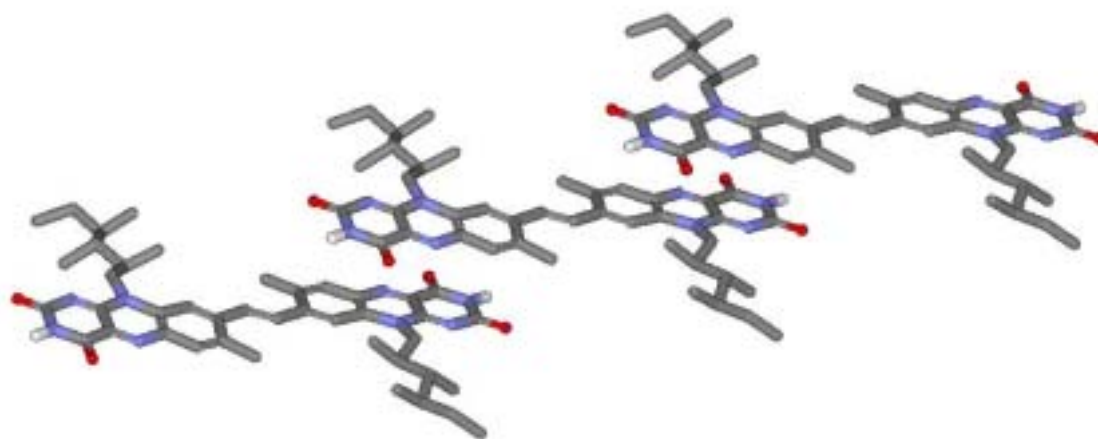


Abb. 4.8-9: Computermodell des J-Aggregates von **56** entstanden mittels π - π -Stacking (Benzoylschutzgruppen wurden nicht in Betracht gezogen).

Die bathochrome Verschiebung im Absorptionsspektrum von **56** kann, außer aufgrund der Aufspaltung der molekularen Orbitale im Aggregat, auch aus einem anderen Grund stattfinden. Um das Aggregat besser zu bilden und um die effektivste Wechselwirkung zwischen den stapelnden Chromophoren zu erzielen, nimmt das Molekül eine planare Geometrie an. Damit verbessert sich die Konjugation im ganzen π -System, was die bathochrome Verschiebung zur Folge hat. Ein anderer Effekt, der die bathochrome Verschiebung hervorrufen kann, ist die Wasserstoffbrückenbildung. Im vorangegangenen Teil über die Wasserstoffbrückenbildung wurde die Komplexbildung mit verschiedenen Rezeptoren beschrieben. Das Ethen-Flavindimer zeigt nach der Komplexbildung eine bathochrome Verschiebung mit dem Maximum bei 533nm. Da dieses Maximum mit dem Maximum des J-Aggregates nicht übereinstimmt, lässt sich daraus schließen, dass die Wasserstoffbildung einen zweitklassigen Effekt bei der Aggregation darstellt. Diese Vermutung bestätigt auch die ^1H -NMR-Untersuchung der Dimerisierung, denn die Dimerisierungskonstante beträgt 30M^{-1} und das heißt, dass die Wechselwirkung sehr schwach ist.

Nach längerem Stehen der Lösung von **56** in Toluol fällt das Ethen-Flavindimer aus. Dies wurde in weiteren unpolaren Lösungsmitteln wie Methylcyclohexan oder n-Hexan beobachtet. Das geschieht wahrscheinlich aufgrund von Nanokristallisation in unpolaren Lösungsmitteln.

Zum Nachweis der Aggregation des Flavindimeres **56** (*Schema 4.8-2*) wurde eine Untersuchung der Viskosität der Lösung in Chloroform durchgeführt. Die Fließkurven bei verschiedenen Konzentrationen zeigen, dass die effektive Viskosität der Lösung mit

steigender Scherspannung geringer wird. Dieses Verhalten ist charakteristisch für pseudoplastische Flüssigkeiten - Lösungen von Polymeren mit hohen Molmassen, Schmelzen von Polymeren und für Dispersionen mit länglichen Partikeln. So richten sich z.B. die länglichen festen Teilchen mit zunehmender Schergeschwindigkeit in Scherrichtung aus, was zu einer Verminderung der Reibung führt.^[132, 133] (Abbildung 4.8-10)

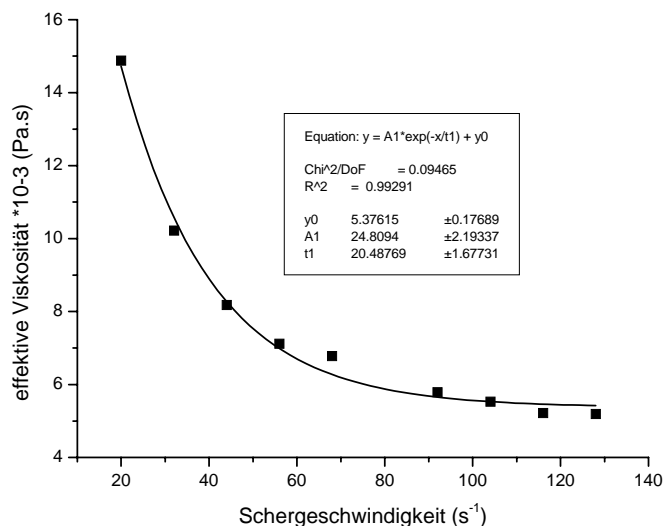


Abb. 4.8-10: Effektive Viskosität von **56** in Chloroform, $c=10\text{mg}/1\text{ml}$.

Zur Bestimmung der Assoziationskonstante des π - π -Stacking wurde eine Lösung von **56** in Methylenchlorid-n-Hexan (5:3) ausgewählt. Zu der konzentrierten Stammlösung wurde die Mischung von Methylenchlorid-n-Hexan (5:3) zugegeben und damit wurde sie verdünnt. Ab einer bestimmten Konzentration bildet sich kein Aggregat mehr und die Bande bei 562nm verschwindet. (Abbildung 4.8-11 und 4.8-12) Für die Auswertung der Messdaten wurde das Equilibriummodell ausgewählt.^[114] Die Assoziationskonstante beträgt 1254M^{-1} .

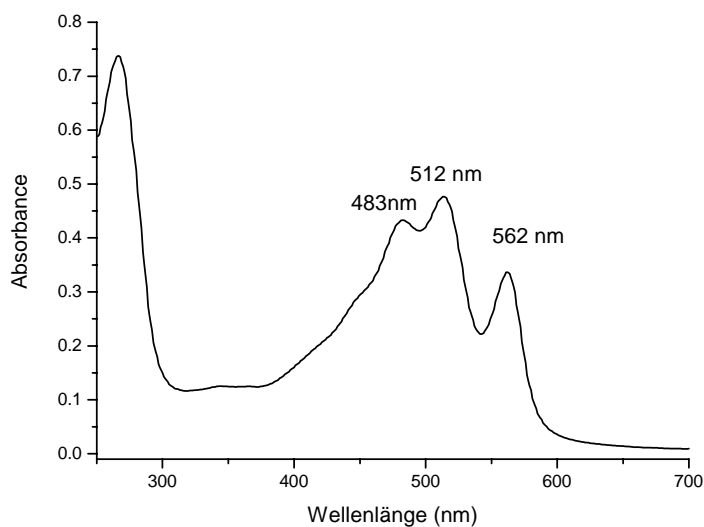


Abb. 4.8-11: Absorptionsspektrum von **56** in n-Hexan/Methylenchlorid 5:3-Mischung ($c = 10^{-5} \text{ M}$).

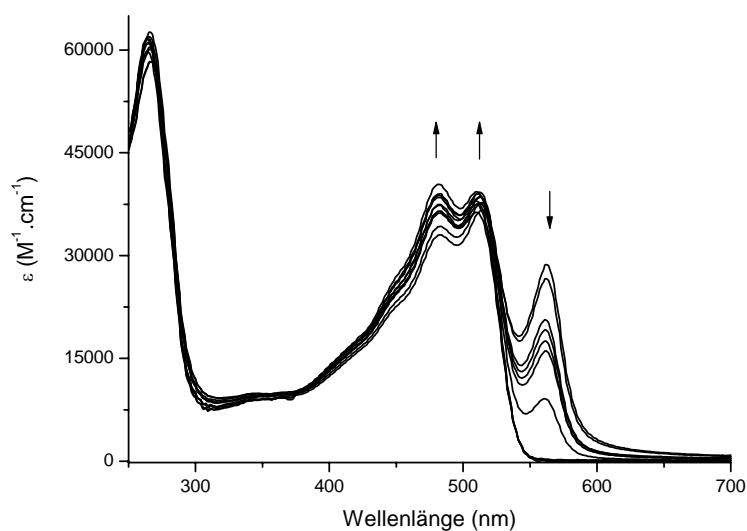


Abb. 4.8-12: Absorptionsspektrum von **56** in n-Hexan/Methylenchlorid 5:3-Mischung bei verschiedenen Konzentrationen ($c_{\text{Anfang}} = 5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $c_{\text{Ende}} = 5 \cdot 10^{-6} \text{ M}$).

Im CD-Spektrum von **56** in Toluol (Kolloid) ergibt sich eine starke Bande mit zwei Maxima bei 517 und 552 nm. Beim Vergleich mit dem Absorptionsspektrum von **56** in Toluol (Lösung) stellt man fest, dass die Maxima aus dem CD-Spektrum mit den Maxima der Absorption 511 und 557 nm übereinstimmen. Die Bande bei 511 nm entspricht dem S_0 - S_1 -Übergang und die Bande bei 557 nm der Absorption des Aggregates. Die Absorption der J-Aggregatbande ist hier sehr stark ausgeprägt. Die starke Intensität

ergibt sich aus der Summe der Amplituden aller wechselwirkenden Chromophorenpaare und der optischen Aktivität der übergeordneten Struktur. (Abbildung 4.8-13)

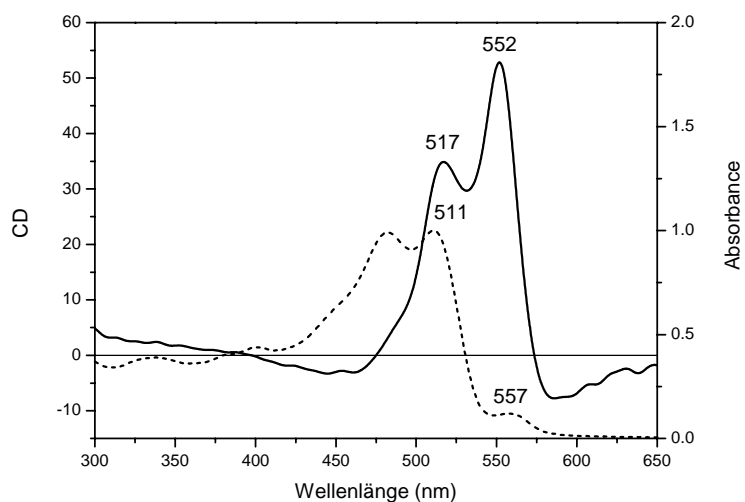


Abb. 4.8-13: CD- und Absorptionsspektrum von **56** in Toluol (Kolloid)

Das Feststoff-CD-Spektrum, von **56** aufgenommen auf einem Glaträger, zeigt ein ähnliches Spektrum wie das CD-Spektrum von **56** als Kolloid. Das Feststoff-Absorptionsspektrum ist durch zwei Banden bei 516 und 553 nm geprägt, die mit den Maxima des Feststoff-CD-Spektrums (540, 519, 549 und 586 nm) korrelieren. (Abbildung 4-8.14)

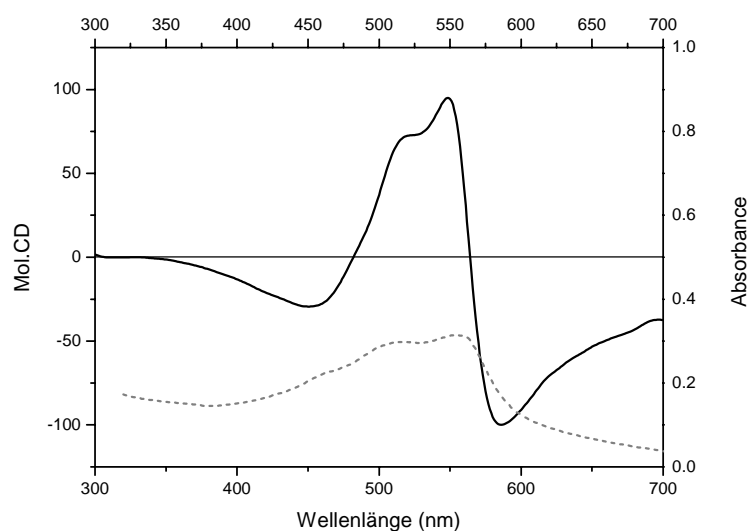


Abb. 4.8-14: Feststoff-CD- (voll) und Absorptionsspektrum (gestrichelt) von **56** auf Glaträger.

Temperaturabhängige UV-, CD- und Fluoreszenzspektren^[65, 134]

Die Untersuchung der Abhängigkeit der Absorption von der Temperatur der Verbindung **56** in Toluol zeigt, dass mit steigender Temperatur die Absorption des J-Aggregates bei 560nm abnimmt, wohingegen die Absorption des Monomers bei 482 und 510nm zunimmt. (Abbildung 4.8-15) Die Auftragung der Veränderung der Absorbance bei 482nm und 560nm (Abbildung 4.8-16 und 4.8-17) gegen die Temperatur liefert eine sigmoidale Kurve, die auf den kooperativen Charakter^[114] des Übergangs vom Aggregat zum Monomer hinweist. Die Absorptionsspektren in Acetonitril bei 25°C und in Toluol bei 65 °C sind etwa identisch, aber unterscheiden sich im Vergleich zum Spektrum in Toluol bei 25 °C. (Abbildung 4.8-18) Diese Beobachtungen stehen in Einklang mit den früheren Spektren von **56** auf einem Glasträger und als Kolloid in Toluol und mit den Spektren der Titration von **56** in Methylenchlorid mit n-Hexan. Die Zugabe von einer sehr geringen Menge eines polaren Lösungsmittels, wie Methanol, zur Lösung in Toluol hat eine hypsochrome Verschiebung zu Folge. Das weist darauf hin, dass die Wasserstoffbrücken am Aggregationsprozess stark beteiligt sind.

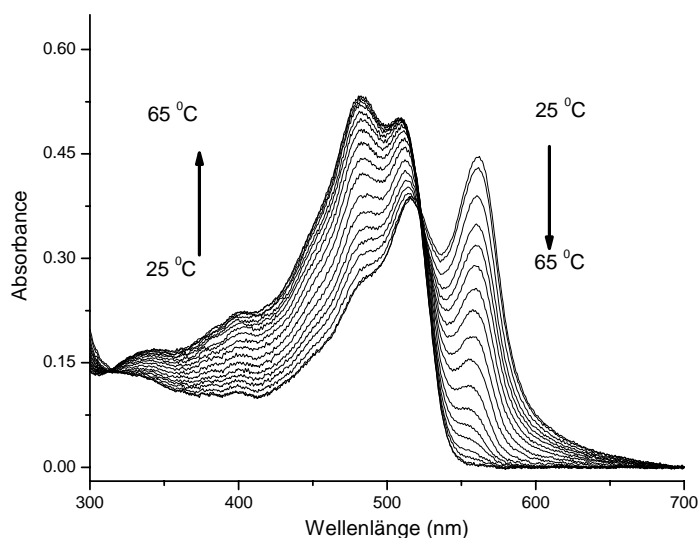


Abb. 4.8-15: Temperaturabhängige Absorptionsspektren von **56** in Toluol ($c = 2 \cdot 10^{-5} \text{ M}$).

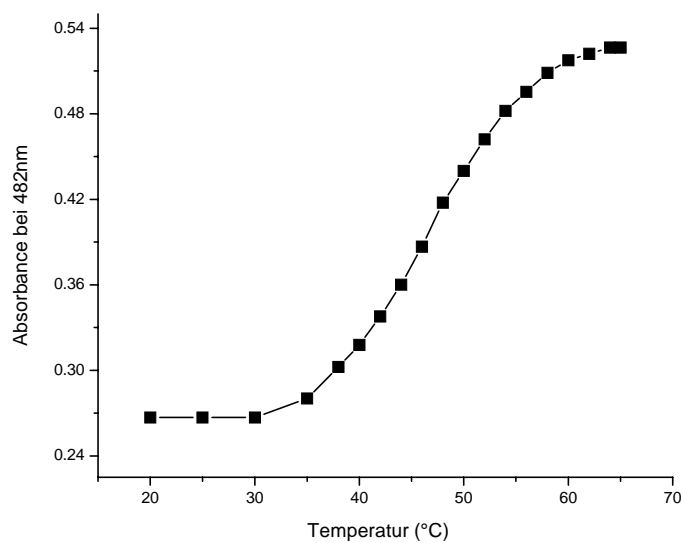


Abb. 4.8-16: Abhängigkeit der Absorption bei 482nm (Monomer) von **56** in Toluol ($c = 2 \cdot 10^{-5} \text{ M}$) zur Temperatur.

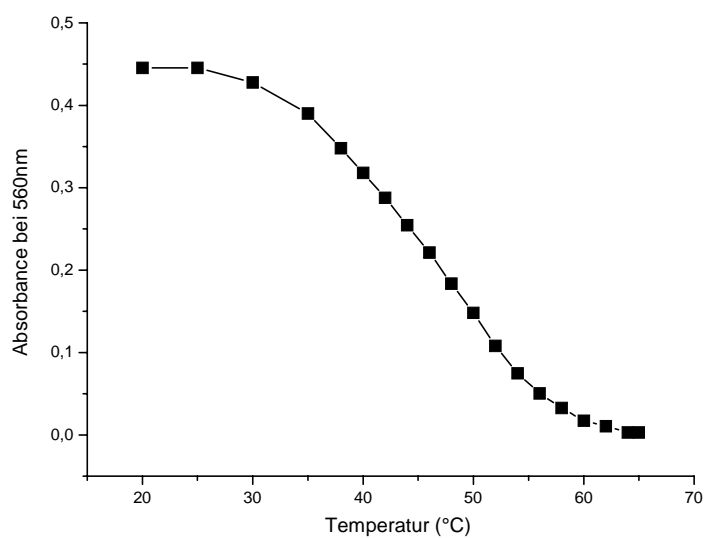


Abb. 4.8-17: Abhängigkeit der Absorption bei 560nm (Aggregat) von **56** in Toluol ($c = 2 \cdot 10^{-5} \text{ M}$) zur Temperatur.

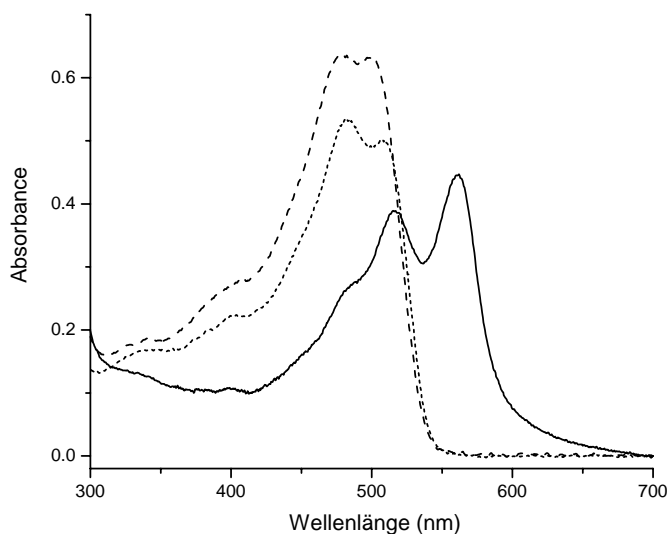


Abb. 4.8-18: Absorptionsspektren von **56** in Toluol bei 25°C(voll), Toluol bei 65°C(...) und in Acetonitril bei 25°C(---).

Wie schon die vorherigen Ergebnisse der CD-Untersuchungen zeigten, ist **56** in CD sehr aktiv. Es wurden starke CD-Signale bei niedrigeren Temperaturen beobachtet. Die Intensität sinkt mit steigender Temperatur. (Abbildung 4.8-19) Es wurden zwei Nulldurchgänge bei 576 und 500nm beobachtet. Mit steigender Temperatur verschieben sich beide hypsochrom zu 559 bzw. 491nm. Ähnlich wie bei den Absorptionsuntersuchungen des Aggregats verschwindet das CD-Signal bei 65°C.

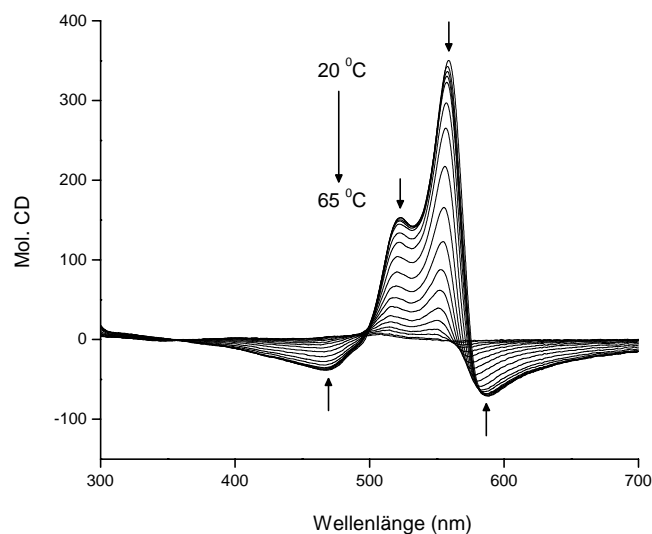


Abb. 4.8-19: Temperaturabhängige CD-Spektren von **56** in Toluol ($c = 2 \cdot 10^{-5} \text{ M}$).

In *Abbildung 4.8-20* ist die Abhängigkeit der Intensität des CD-Maximums bei 559nm von der Temperatur dargestellt. Sie zeigt einen sigmoidalen Übergang, was für den kooperativen Charakter der Aggregatbildung spricht.

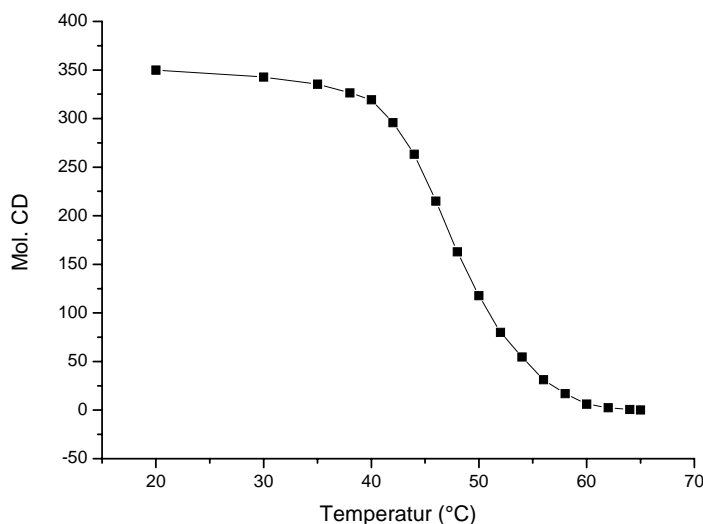


Abb. 4.8-20: Abhängigkeit der Intensität des CD-Signals bei 559nm von **56** in Toluol ($c = 2.10^{-5} \text{ M}$) zur Temperatur.

Die temperaturabhängigen Fluoreszenzspektren zeigen die Emission des Monomers bei 535 und 578nm und des J-Aggregates bei 620nm. Im Vergleich zum Monomer ist die Fluoreszenz des J-Aggregats schwächer. Bei der Anregung im Bereich der Absorption des Monomers wurde keine Abnahme der Fluoreszenz des Aggregates aufgrund des Beitrags der Fluoreszenz des Monomers (die mit steigender Temperatur zunimmt) gefunden. Aber bei der Anregung in dem Bereich, in dem das Monomer nicht absorbiert, nimmt die Fluoreszenz des J-Aggregats ab. (*Abbildung 4.8-21* und *4.8-22*) Die Fluoreszenz in Acetonitril wurde zum Vergleich mit der Fluoreszenz in Toluol herangezogen. Das Fluoreszenzspektrum unterscheidet sich leicht von denen in Toluol. (*Abbildung 4.8-23*)

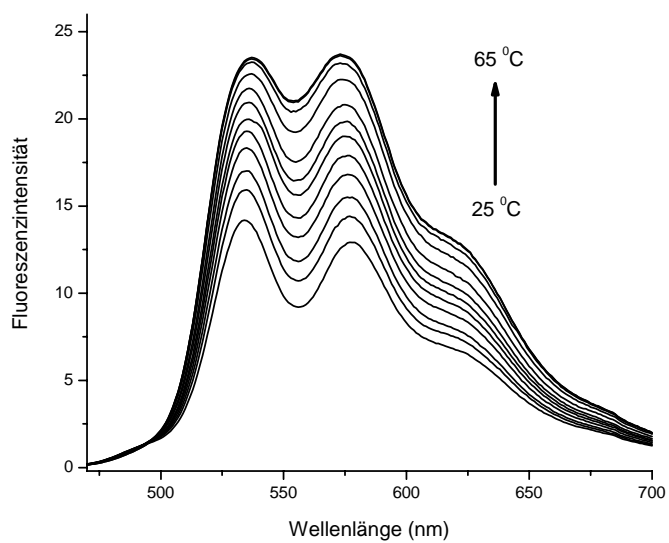


Abb. 4.8-21: Temperaturabhängige Fluoreszenzspektren von **56** in Toluol ($c = 2 \cdot 10^{-5} \text{ M}$), $\lambda_{\text{ex}} = 440 \text{ nm}$.

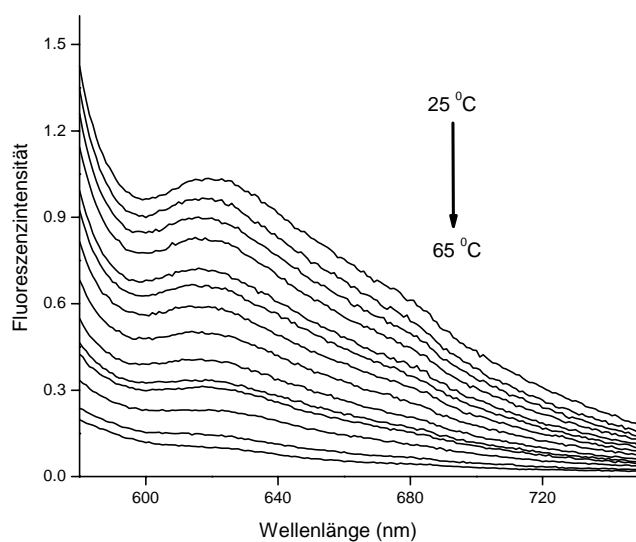


Abb. 4.8-22: Temperaturabhängige Fluoreszenzspektren von **56** in Toluol ($c = 2 \cdot 10^{-5} \text{ M}$), $\lambda_{\text{ex}} = 570 \text{ nm}$.

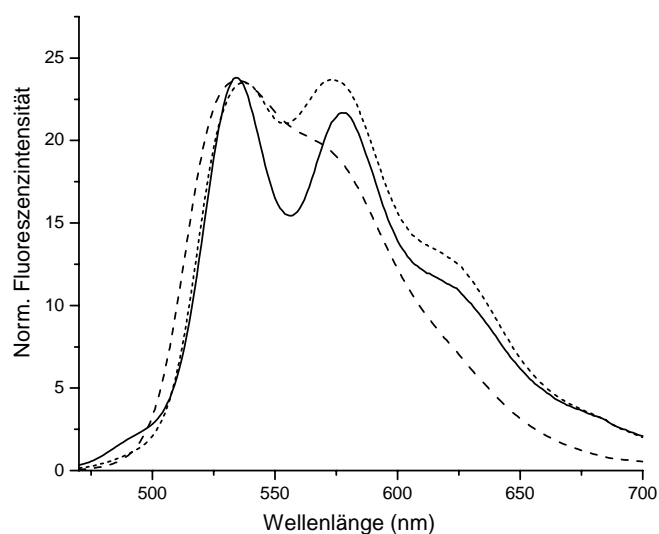


Abb. 4.8-23: Fluoreszenzspektren von **56** in Toluol bei 65°C(voll), Toluol bei 25°C(...) und in Acetonitril bei 25°C(---), $\lambda_{\text{ex}} = 440\text{nm}$.

Im Anregungsspektrum ist die Bande des J-Aggregates bei 560nm, aber mit schwächerer Intensität im Vergleich zum Absorptionsspektrum, zu finden. (Abbildung 4.8-24) Das lässt sich aufgrund der schwächeren Fluoreszenz des J-Aggregats begründen. Die Fluoreszenz des Monomers steigt mit der Temperatur. Das Anregungsspektrum in Acetonitril bei 25°C ist vergleichbar mit dem Spektrum in Toluol bei 65°C, aber unterscheidet sich vom Spektrum in Toluol bei 25°C. (Abbildung 4.8-25).

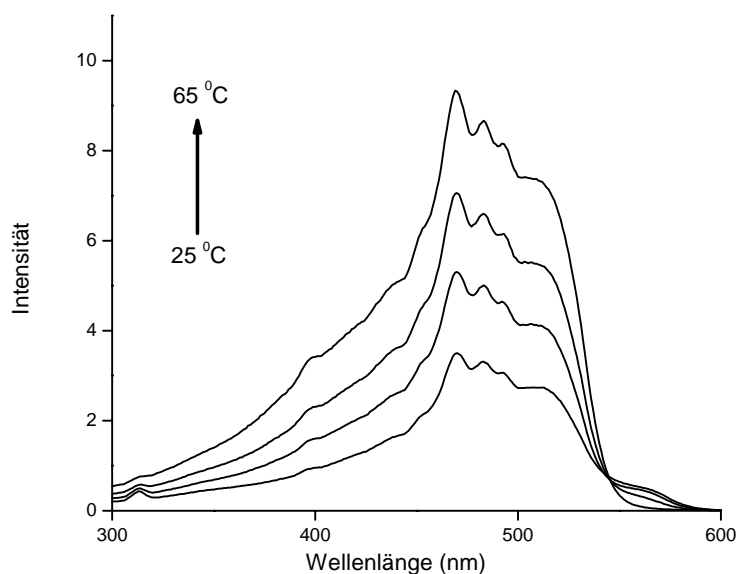


Abb. 4.8-24: Temperaturabhängige Anregungsspektren von **56** in Toluol ($c = 2 \cdot 10^{-5}\text{M}$), $\lambda_{\text{em}} = 625\text{nm}$.

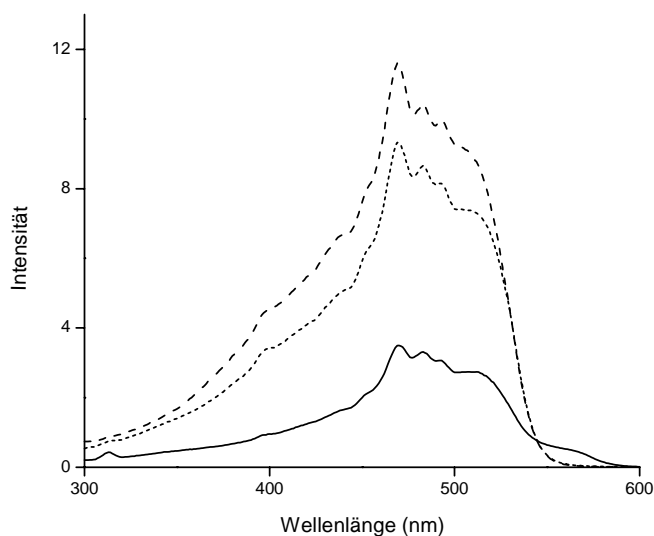


Abb. 4.8-25: Anregungsspektren von **56** in Toluol bei 25°C(voll), Toluol bei 65°C(...) und in Acetonitril bei 25°C(---), $\lambda_{em} = 625\text{nm}$.

Mikroskopische Charakterisierung der Aggregate

Auf Graphit (HOPG) mittels Spin-Coating hergestellte Schichten von **56** wurden durch Rasterkraftmikroskopie (Atomic Force Microscopy, AFM) untersucht. Die Untersuchung der Aggregate, die in Chloroform ($c = 10^{-5}\text{M}$) entstanden sind, zeigte eine ungeordnete stäbchenförmige Struktur. Die Breite dieser Stäbchen ist 8nm. (Abbildung 4.8-26)

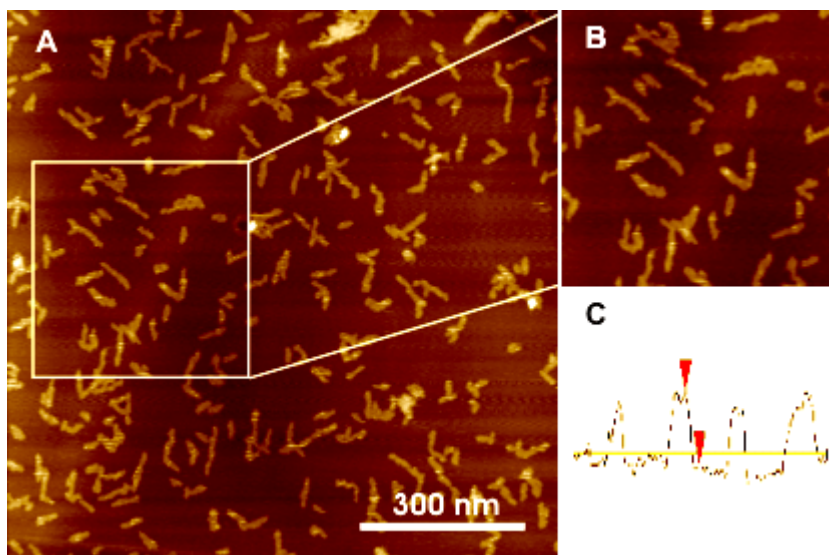


Abb. 4.8-26: AFM-Aufnahme von **56** auf HOPG mittels Spin-Coating-Prozess aufgetragen aus der Lsg. in Chloroform ($c = 10^{-5}\text{M}$); A- Topografie, B- Vergrößerung der Aggregate, C- Cross-Section.

Durch Zugabe von einem unpolaren Lösungsmittel wie n-Hexan wird ein anderer Aggregationstyp erhalten. Wie die AFM-Aufnahme beweist, sind beim Verhältnis Chloroform/n-Hexan - 9:1 zwei verschiedene Strukturen vorhanden. Auf HOPG bildet sich eine von Grafit beeinflusste Schicht (Fischgrätenmuster), die aus den miteinander gut gepackten Aggregaten besteht. Wie die Cross Section-Analyse zeigt, beträgt der Abstand zwischen den höheren Punkten der Zylinder (Aggregaten) $\sim 4,5 \pm 0,1$ nm. Die Periodizität der Struktur wurde auch mittels 2D „fast Fourier transformation“-Analyse berechnet und ist 4,5 nm, was mit den Cross Section-Daten gut korreliert. Die größeren Aggregate haben im Vergleich zu den in der Stammlösung beobachteten Aggregaten (die einzelnen stäbchenförmigen Agglomerate mit Höhe $\sim 0,42 \pm 0,08$ nm) die gleichen Maße. (Abbildung 4.8-27) Beim Lösungsmittelverhältnis Chloroform/n-Hexan - 5:1 wachsen die Aggregate zusammen unter Bildung von Nanokristallen^[135]. (Abbildung 4.8-28)

Die ungeordnete, in Chloroform entstandene, Struktur und Stäbchenform der Aggregate befürwortet die Bildung über Wasserstoffbrückenbildung. Die Form der Aggregate in Chloroform/n-Hexan-Lsg. im Verhältnis 9:1 deutet auf die J-Aggregation hin, die durch die Aggregation mittels π - π -Stacking entstehen. Durch die weitere Zugabe von n-Hexan wird ein anderer Aggregationsmechanismus hervorgerufen, der die Bildung von Nanokristallen begünstigt.

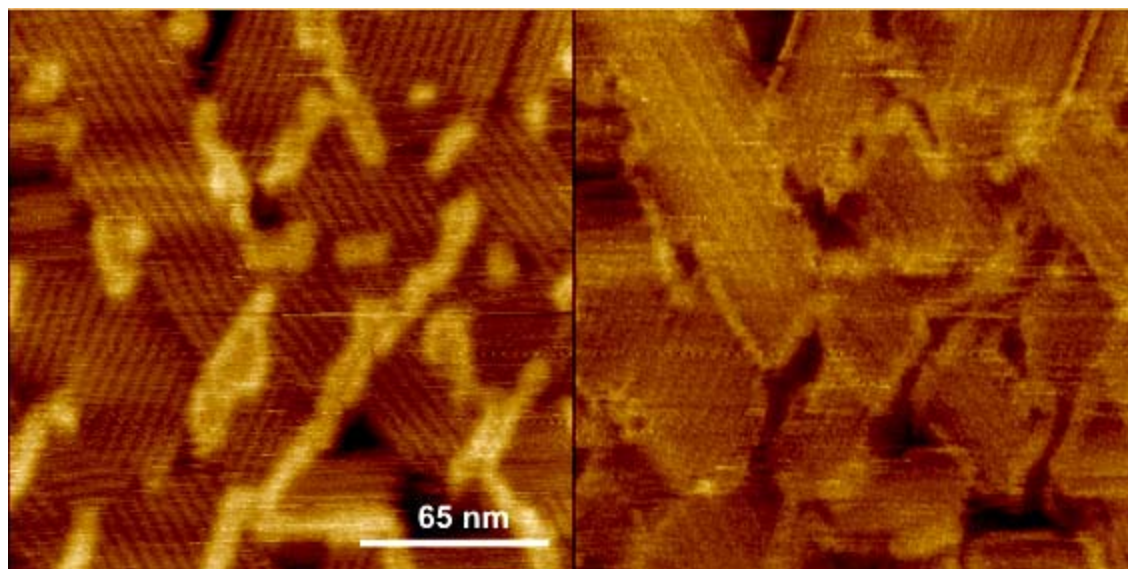


Abb. 4.8-27: AFM-Aufnahme von **56** auf HOPG mittels Spin-Coating-Prozess aufgetragen aus der Lsg. in Chloroform/n-Hexan – 9:1 ($c = 10^{-5}$ M), links: Topographiebild, rechts: Phasenbild.

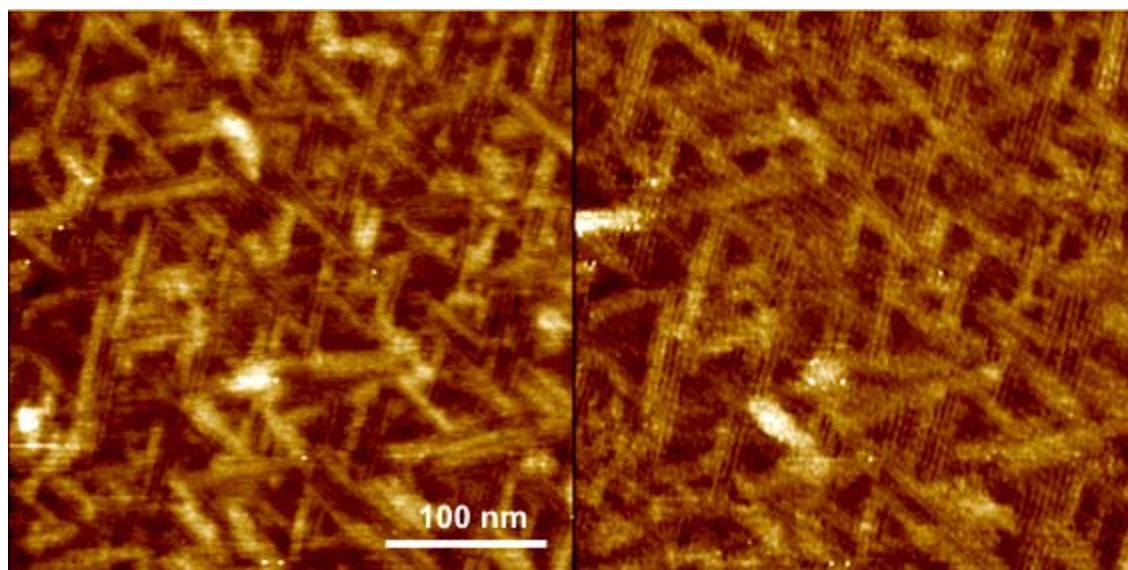


Abb. 4.8-28: AFM-Aufnahme von **56** auf HOPG mittels Spin-Coating-Prozess aufgetragen aus der Lsg. in Chloroform/n-Hexan – 5:1 ($c = 10^{-5} \text{M}$), links: Topographiebild, rechts: Phasenbild.

4.9 Zusammenfassung

Die Flavindimere konnten in einem großen Ausmaß dargestellt werden. Die Synthese wurde optimiert und die Ausbeute von 10% auf 60% erhöht. Durch die angewendeten analytischen Messtechniken wurde die Struktur der Flavindimere gelöst. Die Ethen-Flavindimere zeigen ein anderes Verhalten in Absorptions- und Fluoreszenzspektroskopie, Circular dichroismus, Elektrochemie und Spektroelektrochemie im Vergleich zu Riboflavin. Dagegen weisen Ethan-Flavindimere das charakteristische Verhalten der Riboflavine auf. Aufgrund des komplexierungstauglichen Motivs bei Ethen-Flavindimeren wurden Bindungsstudien durch Wasserstoffbrückenbildung und Metallkomplexierung durchgeführt. Ein ganz besonderes Verhalten ergibt sich bei Ethen-Flavindimeren durch Selbstaggregation in mittel- und unpolaren Lösungsmitteln. Die durchgeführten Studien zeigen die Temperatur- und Lösungsmittelabhängigkeit solcher Aggregate. Durch optische Methoden wie Rasterkraftmikroskopie (AFM) konnten die Aggregate charakterisiert werden. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass die beobachteten Veränderungen in der Absorption von **56** nicht aufgrund der J-Aggregation entstanden sind, sondern aufgrund der Nanokristallisation.

Literaturverzeichnis

- [1] B. König, M. Pelka, R. Reichenbach-Klinke, J. Schelter, J. Daub, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 2297.
- [2] P. Hemmerich, H. Erlenmeyer, B. Prijs, *Helv. Chim. Acta* **1959**, 42, 2164.
- [3] A. Ehrenberg, F. Müller, P. Hemmerich, *European J. Biochem.* **1967**, 2, 286.
- [4] V. M. Berezovskii, R. V. Adanyaeva, N. D. Grigor'eva, *Zh. Obshch. Khim.* **1968**, 38, 1704.
- [5] J. W. Frost, W. H. Rastetter, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 7157.
- [6] R. Drabent, H. Grajek, *Biochim. Biophys. Acta* **1983**, 758, 98.
- [7] A. J. W. G. Visser, G. J. van Ommen, G. van Ark, F. Müller, J. D. W. van Voorst, *Photochemistry and Photobiology* **1974**, 20, 227.
- [8] A. J. W. G. Visser, J. S. Santema, A. van Hoek, *Photobiochemistry and Photobiophysics* **1983**, 6, 47.
- [9] Y. Yano, E. Ohya, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II* **1984**, 7, 1227.
- [10] Y. Kobuke, M. Yamanishi, I. Hamachi, H. Kagawa, H. Ogoshi, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 13, 895.
- [11] H. A. Staab, P. Kirsch, M. F. Zippies, A. Weinges, C. Krieger, *Chem. Ber.* **1994**, 127, 1653.
- [12] S.-I. Murahashi, S. Ono, Y. Imada, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2366.
- [13] Y. Yano, M. Nakazato, R. E. Vasquez, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1985**, 226.
- [14] N. Tamura, K. Mitsui, T. Nabeshima, Y. Yano, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II* **1994**, 2229.
- [15] Y.-H. Lee, J.-J. Choi, *J. Korean Ind. Eng. Chem.* **2001**, 12, 590.
- [16] F. J. Bullock, O. Jardetzky, *1965* **1965**, 30, 2056.
- [17] D. B. McCormick, *J. Het. Chem.* **1970**, 7, 447.
- [18] P. Hemmerich, S. Ghisla, *FEBS Lett.* **1971**, 16, 229.
- [19] P. Johnson, A. Rampal, O. Gawron, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 5396.
- [20] T. C. Bruice, T. W. Chan, J. P. Taulane, I. Yokoe, D. L. Elliott, R. F. Williams, M. Novak, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 6713.
- [21] E. T. Kaiser, H. L. Levine, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 7670.
- [22] L. B. Wingard Jr., K. Narasimhan, *J. Mol. Catal.* **1986**, 34, 253.
- [23] T. Kamiyama, S. Isoda, in *Jpn. Kokai Tokyo Koho*, JP 02032079, Jpn., **1990**, p. 11.
- [24] E. R. Sharp, C. C. Moser, F. Rabana, P. L. Dutton, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, 95, 10465.
- [25] J. R. Miller, D. E. Edmondson, *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 23515.
- [26] D. E. Edmondson, P. Newton-Vinson, *Antioxidants and Redox Signaling* **2001**, 3, 789.
- [27] Efimov, *Biochemistry* **2001**, 40, 2157.
- [28] V. Massey, M. Ortiz-Maldonado, D. P. Ballou, *Biochemistry* **2001**, 40, 1091.
- [29] B. P. Zhou, B. Wu, S.-W. Kwan, C. W. Abell, *J. Biol. Chem.* **1998**, 273, 14862.
- [30] J. R. Miller, N. Guan, F. Hubalek, D. E. Edmondson, *Biochim. Biophys. Acta* **2000**, 1476, 27.
- [31] M. W. Fraaije, R. H. van der Heuvel, W. J. van Berkel, A. Mattevi, *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 35514.
- [32] H. Meier, *Angew. Chem.* **1992**, 104, 1425.
- [33] R. S. H. Liu, *Pure Appl. Chem.* **2002**, 74, 1391.
- [34] C. Dugave, L. Demange, *Chem. Rev.* **2003**, 103, 2475.
- [35] Y. Imamoto, T. Kuroda, M. Kataoka, S. Shevyakov, G. Krishnamoorthy, R. S. H. Liu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 3630.
- [36] W. Fuß, C. Kosmidis, W. E. Schmid, S. A. Trushin, *Angew. Chem.* **2004**, 116, 4273.
- [37] M. Fuhrmann, W. Deininger, S. Kateriya, P. Hegemann, *Photochemistry & Photobiology* **2003**, 3(Photoreceptors and Light Signalling), 124.
- [38] J. Daub, T. Mrozek, E. Riedle, V. De Waele, U. Schmidhammer, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 2438.
- [39] H. Spreitzer, M. Scholz, G. Gescheidt, J. Daub, *Liebigs Ann.* **1996**, 2069.
- [40] Y. Kuriyama, T. Arai, H. Sakuragi, K. Tokumaru, *Chem. Phys. Lett.* **1990**, 173, 253.
- [41] V. M. Rotello, E. Breinlinger, A. Niemz, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 5379.
- [42] R. Deans, G. Cooke, V. M. Rotello, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 836.
- [43] E. Breinlinger, V. M. Rotello, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 1165.
- [44] A. Niemz, V. M. Rotello, *Acc. Chem. Res.* **1999**, 32, 44.
- [45] V. M. Rotello, A. K. Boal, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 4914.
- [46] T. Carell, A. Schwögler, *Organic Letters* **2000**, 2, 1415.

- [47] V. M. Rotello, A. O. Cuello, C. M. McInthosh, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3517.
- [48] R. Deans, A. O. Cuello, T. H. Galow, M. Ober, V. M. Rotello, *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2* **2000**, 1309.
- [49] E. Jeoung, H. Augier de Cremiers, R. Deans, G. Cooke, S. L. Heath, P. E. Vanderstraeten, V. M. Rotello, *Tetrahedron Letters* **2001**, *42*, 7357.
- [50] Y. Ma, S. V. Kolotuchin, S. C. Zimmerman, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 13757.
- [51] P. Hemmerich, *Helv. Chim. Acta* **1964**, *47*, 464.
- [52] C. J. Fritchier Jr., R. H. Benno, *Acta Cryst.* **1973**, *B29*, 2493.
- [53] P. Hemmerich, J. Lauterwein, J.-M. Lhoste, *Inorg. Chem.* **1975**, *14*, 2152.
- [54] P. Hemmerich, J. Lauterwein, J.-M. Lhoste, *Inorg. Chem.* **1975**, *14*, 2161.
- [55] M. Goodgame, K. W. Johns, *Inorg. Chim. Acta* **1979**, *34*, 1.
- [56] M. J. Clark, M. G. Dowling, A. R. Garafalo, T. F. Brennan, *J. Biol. Chem.* **1980**, *255*, 3472.
- [57] M. J. Clark, M. G. Dowling, *Inorg. Chim. Acta* **1983**, *78*, 153.
- [58] D. E. Edmondson, G. Tollin, *Top. Current Chem.* **1983**, *108*, 109.
- [59] W. Kaim, B. Schwederski, O. Heilmann, F. M. Hornung, *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *182*, 323.
- [60] H. Ohshiro, K. Mitsui, N. Ando, Y. Ohsawa, W. Koinuma, H. Takahashi, S. Kondo, T. Nabeshima, Y. Yano, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2478.
- [61] B. König, R. Reichenbach-Klinke, M. Kruppa, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12999.
- [62] T. Kobayashi, *J-Aggregates*, World Sci, Singapore, **1996**.
- [63] A. B. Patel, R. S. Phadke, *Mater. Sci. Eng.* **1995**, *C3*, 273.
- [64] M. D. Greaves, T. H. Galow, V. M. Rotello, *Chem. Commun.* **1999**, 169.
- [65] A. Ajayaghosh, S. J. George, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5148.
- [66] A. Ajayaghosh, S. J. George, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 346.
- [67] M. Ebitani, H. Kashiwagi, M. Inoue, S. Enomoto, T. Ishida, *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *37*, 2273.
- [68] M. Ebitani, Y. In, T. Ishida, K.-I. Sakaguchi, J. L. Flippen-Anderson, I. L. Karle, *Acta Cryst.* **1993**, *B49*, 136.
- [69] J. W. Frost, W. H. Rastetter, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 5242.
- [70] H. Friebolin, *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, **1992**.
- [71] N. Harada, K. Nakanishi, *Circular Dichroic Spectroscopy - Exciton Coupling in Organic Stereochemistry*, University Science Book, Mill Valley, **1983**.
- [72] K. Nakanishi, N. Berova, R. W. Woody, *Circular Dichroism - Principles and Applications*, VCH Publishers, Inc., Weinheim, **1994**.
- [73] G. Scola-Nagelschneider, P. Hemmerich, *Z. Naturforsch.* **1972**, *27b*, 1044.
- [74] V. Massey, F. Müller, S. G. Mayhew, *Biochemistry* **1973**, *12*, 4654.
- [75] A. Bacher, H. Harders, S. Förster, W. Voelter, *Biochemistry* **1974**, *13*, 3360.
- [76] X. Liu, Y. Zhu, G. Cheng, S. Dong, *Electronanalysis* **2001**, *13*, 1071.
- [77] J. Schelter, Dipl. thesis, Univ. Regensburg (Regensburg), **1999**.
- [78] J. Salbeck, U. Schöberl, K. N. Rapp, J. Daub, *Zeitschrift fuer Physikalische Chemie (Muenchen, Germany)* **1991**, *171*, 191.
- [79] H. Ohshiro, N. Tamura, A. Arai, K. Yamaguchi, M. Takanobu, T. Tominami, S. Kondo, T. Nabeshima, Y. Yano, J. Toyoda, K. Nakasuji, P. F. Heelis, *Heterocycles* **1998**, *48*, 627.
- [80] B. Uno, Y. Matsuhisa, K. Kano, T. Kubota, *Chem. Pharm. Bull.* **1984**, *32*, 1.
- [81] H. Görner, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2002**, *4*, 482.
- [82] S. M. Halas, K. Okyne, A. J. Fry, *Electrochimica Acta* **2003**, *48*, 1837.
- [83] C. Trieflinger, Dipl. thesis, Universität Regensburg (Regensburg), **2001**.
- [84] E. L. Loechler, T. C. Hollocher, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7312.
- [85] E. L. Loechler, T. C. Hollocher, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7322.
- [86] E. L. Loechler, T. C. Hollocher, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7328.
- [87] J. R. Cashman, Y. Liu, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2049.
- [88] M. Fontecave, S. Ollagnier-de-Choudens, E. Mulliez, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2149.
- [89] P. S. Surdhar, D. A. Armstrong, *Can. J. Chem.* **1985**, *63*, 3411.
- [90] F. Müller, *Chemistry and Biochemistry of Flavoenzymes, Vol. II*, CRC Press, Boston, **1991**.
- [91] C. Griesbeck, M. Schuetz, T. Schoedl, S. Bathe, L. Nausch, N. Mederer, M. Vielreicher, G. Hauska, *Biochemistry* **2002**, *41*, 11552.
- [92] J. M. Christie, M. Salomon, K. Nozue, M. Wada, W. R. Briggs, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 8779.
- [93] M. Salomon, J. M. Christie, E. Knieb, U. Lempert, W. R. Briggs, *Biochemistry* **2000**, *39*, 9401.
- [94] S. Crosson, K. Moffat, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 2995.

- [95] M. Salomon, W. Eisenreich, H. Dürr, E. Schleicher, E. Knieb, V. Massey, W. Rüdiger, F. Müller, A. Bacher, G. Richter, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 12357.
- [96] T. E. Swartz, S. B. Corchnoy, J. M. Christie, J. W. Lewis, I. Szundi, W. R. Briggs, R. A. Bogomolni, *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 36493.
- [97] T. Iwata, S. Tokutomi, H. Kandori, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 11840.
- [98] M. Kasahara, T. E. Swartz, M. A. Olney, A. Onodera, N. Mochizuki, H. Fukuzawa, E. Asamizu, S. Tabata, H. Kanegae, M. Takano, J. M. Christie, A. Nagatani, W. R. Briggs, *Plant Physiology* **2002**, 129, 762.
- [99] W. R. Briggs, R. A. Bogomolni, S. B. Corchnoy, T. E. Swartz, J. W. Lewis, I. Szundi, *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 724.
- [100] K. Moffat, S. Crosson, S. Rajagopal, *Biochemistry* **2003**, 42, 2.
- [101] K. Moffat, J. T. M. Kennis, S. Crosson, M. Gauden, I. H. M. van Stokkum, R. van Grondelle, *Biochemistry* **2003**, 42, 3385.
- [102] C. W. M. Kay, E. Schleicher, A. Kuppig, H. Hofner, W. Rüdiger, M. Schleicher, M. Fischer, A. Bacher, S. Weber, G. Richter, *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 10973.
- [103] T. Kottke, J. Heberle, D. Hehn, B. Dick, P. Hegemann, *Biophys. J.* **2003**, 84, 1192.
- [104] J. T. M. Kennis, I. H. M. van Stokkum, S. Crosson, M. Gauden, K. Moffat, R. van Grondelle, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 4512.
- [105] W. H. Walker, T. P. Singer, S. Ghisla, P. Hemmerich, *Eur. J. Biochem.* **1972**, 26, 279.
- [106] S. Fukuzumi, S. Kuroda, T. Goto, K. Ishikawa, T. Tanaka, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II* **1989**, 1047.
- [107] L. Brunsveld, B. J. B. Folmer, E. W. Meijer, R. P. Sijbesma, *Chem. Rev.* **2001**, 101, 4071.
- [108] S. Wanatabe, N. Kosaka, S. Kondo, Y. Yano, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2004**, 77, 569.
- [109] T. K. Park, J. Schroeder, J. J. Rebek, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 5125.
- [110] M. H. Al-Sayah, N. R. Branda, *Org. Lett.* **2002**, 4, 881.
- [111] F. Würthner, S. Yao, *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 8943.
- [112] M. E. Cohen, T. H. Hamilton, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1975**, 72, 4346.
- [113] C. S. Wilcox, *Frontiers in Supramolecular Organic Chemistry and Photochemistry*, VCH, Weinheim, **1991**.
- [114] K. A. Connors, *Binding Constants*, John Wiley + Sons, New York, **1987**.
- [115] J.-M. Lehn, *Polym. Int.* **2002**, 51, 825.
- [116] G. Proni, G. P. Spada, P. Lustenberg, R. Welti, F. Diederich, *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 5522.
- [117] M. Bastian, H. Sigel, *Inorg. Chem.* **1997**, 36, 1619.
- [118] C. E. Berry, J. M. Hare, *J. of Physiology* **2004**, 555(3), 589.
- [119] D. C. Harris, *Lehrbuch der Quantitativen Analyse*, Vieweg Verlag, Braunschweig, **1998**.
- [120] A. M. van Oijen, M. Ketelaars, J. Köhler, T. J. Aartsma, J. Schmidt, *Science* **1999**, 285, 400.
- [121] A. Ben-Shem, F. Frolow, N. Nathan, *Nature* **2003**, 426, 630.
- [122] K. N. Ferreira, T. M. Iverson, K. Maghlaoui, J. Barber, S. Iwata, *Science* **2004**, 303, 1831.
- [123] R. K. Castellano, F. Diederich, E. A. Meyer, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 1244 und darin zitierte Literatur
- [124] S. Shinkai, S. Harada, K. Ishikawa, O. Manabe, F. Yoneda, *Chem. Lett.* **1981**, 479.
- [125] S. M. Butterfield, C. M. Goodman, V. M. Rotello, M. L. Waters, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 724.
- [126] F. Fieschi, V. Niviere, C. Frier, J.-L. Décout, M. Fontecave, *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 30392.
- [127] A. Lostao, C. Gomez-Moreno, S. G. Mayhew, J. Sancho, *Biochemistry* **1997**, 36, 14334.
- [128] M. S. Cheung, I. Daizadeh, A. A. Stuchebrukhov, P. F. Heelis, *Biophys. J.* **1999**, 76, 1241.
- [129] M. Gondry, J. Dubois, M. Terrier, F. Lederer, *Eur. J. Biochem.* **2001**, 268, 4918.
- [130] T. Ishida, M. Itoh, M. Horiuchi, S. Yamashita, M. Doi, M. Inoue, Y. Mizunoya, Y. Tona, A. Okada, *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, 34, 1853.
- [131] E. M. Seward, R. B. Hopkins, W. Sauerer, S.-W. Tam, F. Diederich, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 1783.
- [132] M. Goldraich, J. R. Schwarz, J. L. Burns, Y. Talmon, *Colloids and Surfaces* **1997**, A125, 231.
- [133] H. D. Dörfler, *Grenzflächen und kolloid-disperse Systeme*, Springer, Berlin, **2002**.
- [134] A. Ajayaghosh, S. J. George, V. K. Praveen, *Angew. Chem.* **2003**, 42, 332.
- [135] H. S. Nalwa, *Handbook of Nanostructured Materials and Nanotechnology., Vol. 5: Organics, Polymers, and Biological Materials*, Academic Press, San Diego, **2000**.

5 Experimenteller Teil

5.1 Allgemeines

5.1.1 Spektroskopie

IR-Spektren

Bio-Rad FT-IR-Spektrometer FTS 155.

NMR-Spektren

- Bruker AC-250 (^1H : 250,1MHz, ^{13}C : 62,9MHz), Messtemperatur: 24°C.
- Bruker ARX-400 (^1H : 400,1MHz, ^{13}C : 100,6MHz), Messtemperatur: 21°C.
- Avance 300 (^1H : 300,1MHz, ^{13}C : 75,5MHz), Messtemperatur: 26°C
- Avance 400 (^1H : 400,1MHz, ^{13}C : 100,6MHz), Messtemperatur: 26°C
- Avance 600 (^1H : 600,1MHz, ^{13}C : 150,9MHz), Messtemperatur: 26°C

Die chemischen Verschiebungen sind in δ -Werten (ppm) relativ zu TMS als internem Standard angegeben. Die Auswertung erfolgt soweit möglich nach erster Ordnung.

Angabemodus: Chemische Verschiebung (Multiplizität, Anzahl der Protonen, Kopplungskonstante, Zuordnung).

Abkürzungen: s = Singulett, bs = breites Singulett, d = Dublett, dd = Dublett vom Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multiplett, p = pseudo-.

Genauigkeit der Angabe: chemische Verschiebung i.d.R. 0,01ppm bei ^1H -NMR, 0,1ppm bei ^{13}C -NMR; Kopplungskonstante: 0,1Hz.

Das verwendete Lösungsmittel ist jeweils bei den Spektren vermerkt.

UV/Vis-Spektren

Perkin-Elmer Lambda 9 UV/Vis/NIR-Spektrophotometer.

Verwendet werden 1 und 0,1 cm-Quarzküvetten der Firma Hellma sowie Uvasol-Lösungsmittel der Firmen Acros und Aldrich. Angabemodus: λ_{max} in nm (ϵ)

Fluoreszenzspektroskopie

F-4500 Hitachi Fluoreszenz-Spektrophotometer.

Verwendet werden 1 cm-Quarzküvetten der Firma Hellma und Uvasol-Lösungsmittel der Firmen Acros und Aldrich. Soweit nicht anders angegeben, wird jeweils bei der langwelligsten Absorptionsbande angeregt. Die Konzentration der Messlösung liegt im Bereich von 10^{-6} M.

Circulardichroismus-Spektren

Jasco J-710 Spektropolarimeter.

Verwendet werden 1 und 0,1 cm-Quarz-Rundküvetten der Firma Hellma sowie Uvasol-Lösungsmittel der Firmen Acros und Aldrich. Angabemodus: λ in nm ($\Delta\epsilon$).

Polarimetrie

Perkin-Elmer PE 241 Polarimeter.

Die Länge der Messküvette beträgt 10cm. Verwendet werden Uvasol-Lösungsmittel der Firmen Acros und Aldrich. In der Regel wird die Messung mit Licht der Wellenlänge 589 nm durchgeführt.

Angabemodus: $[\alpha]_D^{20}$ in $\left[\frac{^\circ \cdot ml}{g \cdot dm} \right]$, c in $\left[\frac{g}{100 ml} \right]$

Massenspektren

- Varian CH-5 (EI)
- Finnigan MAT 95 (FAB und FD)
- Finnigan MAT SSQ 7000 (ESI)

Bei FAB dient Xenon als Ionisationsgas. Die Matrix ist jeweils aufgeführt.

5.1.2 Analytik

Schmelzpunkte

- Mikroskop-Heiztisch Reichert Thermovar.

Die angegebenen Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

Elementaranalysen

Mikroanalytisches Labor des Fachbereichs Chemie und Pharmazie der Universität Regensburg.

5.1.3 Synthese

Säulenchromatographie

Kieselgel Merck Geduran SI 60.

Dünnschichtchromatographie

Aluminiumfolien Merck 60 F₂₅₄ Kieselgel, Schichtdicke 0,2mm.

Lösungsmittel

Reinigung und Trocknung nach den üblichen Verfahren.^[1, 2]

Wenn nicht anders vermerkt, werden handelsübliche Qualitäten eingesetzt.

5.1.4 Elektrochemie

Cyclovoltammetrie

Die Durchführung der cyclovoltammetrischen Messungen erfolgt in speziell gereinigten Lösungsmitteln. Die Konzentration der untersuchten Lösungen beträgt etwa 10^{-3} M. Um eine ausreichende Leitfähigkeit der Lösung zu gewährleisten und um Migrationsströme zu vermeiden, wird Tetrabutylammoniumhexafluorophosphat (TBAHFP) in einer Konzentration von 0,1M als Leitsalz zugesetzt. Die Messung erfolgt in einer Zelle mit Dreielektrodenanordnung, wobei die Messwerte gegen Ferrocenium/Ferrocen (Fc/Fc^+) als internem Standard geeicht werden.

- Elektrochemiesystem (Potentiostat/Galvanostat) EG&G 283A.
- Unterteilte Messzelle mit polierter Pt-Scheibenelektrode als Arbeitselektrode, mit großflächigem, erst vernickeltem, dann vergoldetem V2A-Stahlblech als Gegenelektrode und mit Ag/AgCl-Pseudoreferenzelektrode (interne Eichung gegen Ferrocen).
- Lösungsmittel und Leitsalz Tetrabutylammoniumhexafluorophosphat (TBAHFP) wie in Lit.^[3, 4] beschrieben.

Coulometrische Eichexperimente

Die Zahl der übertragenen Elektronen bei cyclovoltammetrischen Experimenten wird durch Eichung gegen eine äquimolar eingewogene Menge an Ferrocen in Dünnschicht-CV-Experimenten bestimmt.

UV/VIS/NIR-Spektroelektrochemie

- UV/VIS/NIR-Spektrophotometer Perkin-Elmer Lambda 9.
- Potentiostat/Galvanostat Amel 2053.
- Spektroelektrochemische Quarz-Messzelle mit Minigrid-Goldnetz als transparente Arbeitselektrode.^[5]

CD-Spektroelektrochemie

- Spektropolarimeter Jasco J-710.
- Potentiostat/Galvanostat Amel 550.
- Spektroelektrochemische Quarz-Messzelle mit Minigrid-Goldnetz als transparente Arbeitselektrode.

Elektrochemilumineszenz-Messungen^[6]

Hitachi F-4500 Fluoreszenzspektrometer.

5.1.5 Layout

Diese Arbeit wurde mit Microsoft Office 2003 - WORD für WINDOWS editiert und gesetzt. Formelzeichnungen wurden mit ISIS/Draw 2.4 entworfen. Graphische Zeichnungen wurden mit Microsoft Office 2003 - PowerPoint angefertigt.

5.2 Synthese

Allgemeine Isoalloxazinsynthese (AV1)^[7]

In einen ausgeheizten Schlenckkolben wird o-Nitro-N-alkylanilin und Essigsäure unter Feuchtigkeit- und Luftausschluss vorgelegt und auf 70-80°C erhitzt. Daraufhin wird die 25fache molare Menge von Zinkpulver portionsweise zugegeben. Nach der Zugabe wird die Reaktionsmischung 20min bei RT gerührt. Dann wird es abgekühlt und unter Stickstoff in einen zweiten Schlenckkolben filtriert, in die Lösung von 1,25fachen molaren Überschuss von Alloxanhydrat und 2,5fachen molaren Überschuss von Borsäure in Essigsäure. Die neu entstandene Reaktionsmischung wird unter Licht-, Feuchtigkeit- und Sauerstoffausschluss weitere 18h bei RT gerührt. Dann erfolgt entweder eine Filtration vom ausgeschiedenen Produkt oder das Lösungsmittel wird unter Vakuum abgesaugt, in MC aufgenommen, mit einer gesättigten NaHCO₃-Lsg., Wasser und einer gesättigten NaCl-Lsg. gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Je nach Reinheit wird das Isoalloxazinderivat umkristallisiert oder säulenchromatographisch gereinigt.

Allgemeine Vorschrift zur Alkylierung der N-3-Position des Isoalloxazines (AV2)^[7]

Unter N₂-Atmosphäre werden Isoalloxazinderivate und ein zehnfach molarer Überschuss von K₂CO₃ in abs. DMF vorgelegt. Anschließend erfolgt die Zugabe von Alkylhalogenid, ebenfalls im zehnfachen molaren Überschuss. Die Reaktionsmischung wird unter Lichtausschluss bei RT 18h gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird das DMF abgezogen und der Rückstand in MC aufgenommen. Die MC-Phase wird mit 1M HCl, mehrmals mit Wasser und anschließend mit NaCl-Lsg. gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel oder Umkristallisation.

Allgemeine Vorschrift zur Stille-Kupplung (AV3)^[8, 9]

Unter N₂-Atmosphäre werden equimolare Mengen an Arylhalogenid und Stannyl-Verbindung in abs. DMF gelöst und mit Tetrakis-(triphenylphosphin)-palladium-(0) (zwischen 3 und 5 mol-%) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird in einem Ölbad mit einem Kontaktthermometer auf 90 bis 100°C erhitzt, wobei das Reaktionsende mittels DC festgestellt wird. Nach dem Abziehen des DMF mittels einer Kühlfalle, wird das Produkt chromatographisch gereinigt.

Allgemeine Vorschrift zur EDC-HOAt-Kupplung (AV4)^[10]

In einen ausgeheizten Kolben werden unter N₂-Atmosphäre und Kühlung auf 0°C Carboxysäure, Aminosäurederivat, HOAt, EDC und Methylenchlorid vorgelegt. Die Reaktionsmischung wird 18h gerührt, wobei man die Temperatur auf RT steigen lässt. Nach Beendigung der Reaktion wird MC einrotiert und das Produkt säulenchromatographisch gereinigt.

Allgemeine Vorschrift zur Veretherung von 6,6'-Dibrom-2,2'-dihydroxy-1,1'-binaphtyl (AV5)^[11]

6,6'-Dibrom-2,2'-dihydroxy-1,1'-binaphtyl wird in absolutem, N₂-gesättigtem DMF gelöst und im Eisbad gekühlt. Anschließend erfolgt die Zugabe von Natriumhydrid im fünffachen molaren Überschuss pro vorhandener Hydroxygruppe, wobei eine heftige Gasentwicklung (H₂) eintritt. Man rührt die Lösung 20min unter Eisbadkühlung und lässt sie dann auf RT erwärmen, wobei die Lösung eindickt. Nun erfolgt die Zugabe des entsprechenden Halogenalkans, das ebenfalls im fünffachen molaren Überschuss pro Hydroxylgruppe eingesetzt wird. Die Reaktionslösung wird bei RT 20h gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird das DMF abgezogen und der Rückstand in MC aufgenommen. Überschüssiges Natriumhydrid wird durch Zugabe von Methanol hydrolysiert. Die MC-Phase wird mehrmals mit Wasser und anschließend mit NaCl-Lsg. gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel oder Umkristallisation.

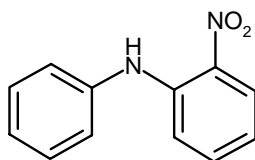
Allgemeine Vorschrift zur Dimerisierung von Riboflavin (AV6)^[12]

In einen ausgeheizten Schlenckkolben werden unter N₂-Atmosphäre Riboflavinderivat, Cs₂CO₃ und absolutes 1,4-Dioxan vorgelegt. Der Ansatz wird unter Rühren 30min refluxiert, wobei sich die Farbe der Lösung von orange zu tief grün ändert. Zur heißen Reaktionsmischung wird Jod zugegeben. Den Ansatz lässt man unter Rühren und N₂-Atmosphäre abkühlen. Das LM wird abgezogen, das Rohprodukt in MC aufgenommen und das überschüssige Jod mit 2M Na₂S₂O₄-Lsg. ausgewaschen. Die organische Phase wird gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie EE/MC 1:1 und anschließender Flash- Säulenchromatographie MC/MeOH 9:1.

5.2.1 Cryptochrom-Modellsysteme

5.2.1.1 2-Nitro-N-phenylanilin (1)

Synthese nach Lit.^[7]



In einem ausgeheizten Dreihalskolben mit Innenthermometer und Tropftrichter werden unter N₂-Atmosphäre 5ml (5,1g, 54,762mmol) Anilin und 15,33g pulverisierte KOH in ca. 40 ml abs. DMSO vorgelegt. Unter Eiskühlung tropft man innerhalb einer Stunde 7,26ml (9,66g; 68,457mmol) 2-Fluor-1-nitrobenzol zu, wobei die Temperatur der Lösung zwischen 15°C und 17°C betragen sollte. Anschließend lässt man die Lösung 3h bei dieser Temperatur rühren. Die violette Lösung wird in 500ml eiskaltes Wasser gegossen und mit konz. HCl neutralisiert. Das Rohprodukt wird in CH₂Cl₂ aufgenommen, die organische Phase wird abgetrennt, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Den schwarzen Rückstand chromatographiert man an SiO₂ mit Toluol.

C₁₂H₁₀N₂O₂ 214,22

Ausbeute: 9,66 g (45,094 mmol, 73,2%), orange Nadeln

Schmp.: 75-77°C

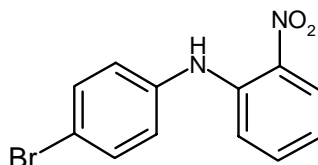
¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ= 6,75 (t, 1H, β zu NO₂), 7,07-7,54 (m, 7H, Phenylringe), 8,18 (d, 1H, α zu NO₂), 9,47 (s br, 1H, NH) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3360, 1360cm⁻¹;

EI-MS 214(M⁺), 197(M⁺-17)

5.2.1.2 2-Nitro-(4'-bromphenyl)-anilin (2)

Synthese analog Lit.^[7]



In einem ausgeheizten Dreihalskolben mit Innenthermometer und Tropftrichter werden unter N₂-Atmosphäre 10,32g (60,0mmol) 4-Bromanilin und 20g pulverisierte KOH in circa 50ml abs. DMSO vorgelegt. Unter Eiskühlung tropft man innerhalb einer Stunde 8ml (10,64g; 75,9mmol) 2-Fluor-1-nitrobenzol zu, wobei die Temperatur der Lösung

zwischen 15°C und 17°C betragen sollte. Anschließend lässt man die Lösung 3h bei dieser Temperatur rühren. Die violette Lösung wird in 600ml eiskaltes Wasser gegossen und mit konz. HCl neutralisiert. Das Rohprodukt wird in CH₂Cl₂ aufgenommen, die organische Phase wird abgetrennt, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Den schwarzen Rückstand chromatographiert man an SiO₂ mit Toluol (R_f= 0,8).

C₁₂H₉N₂O₂Br 293,11

Ausbeute: 4,37 g (14,909 mmol, 24,8 %), rote Nadeln

Schmp.: 159°C (Lit.: 162°C)

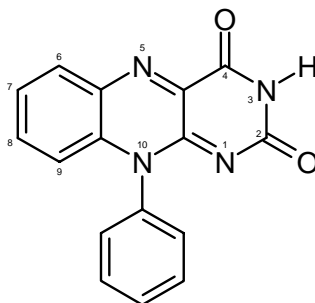
¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆): δ= 6,78–6,85 (m; 1 H; H(6)); 7,14-7,22 (m; 3 H; H(5), H(2'), H(6')); 7,36-7,43 (m; 1 H; H(4)); 7,52 (AA'; 2 H; J = 8,7Hz; H(5'), H(3')); 8,21 (dd; 1 H; J = 8,5Hz, 1,6Hz; H(3)); 9,39 (s; br; N-H); ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3335, 3087, 1618, 1582, 1504, 1424, 1351, 1323, 1262, 1223, 1146, 1073, 1041, 804, 736, 506cm⁻¹;

EI-MS (PI-DCIMS) 293,0(MH⁺), 310,1(M+NH₄⁺)

5.2.1.3 N-10-Phenylisoalloxazin (3)

Synthese nach AV1



Ansatzgröße: 3,7g (17,272mmol) 2-Nitrodiphenylamin (1)

26,71g (408 mmol) Zink

150ml Essigsäure

3,27g (20,423 mmol) Alloxan.Hydrat

2,73g (44,114 mmol) H₃BO₃

50ml Essigsäure

C₁₆H₁₀N₄O₂ 290,28

Ausbeute: 3,2g (11,024 mmol, 63,9%), gelbgrünes Pulver

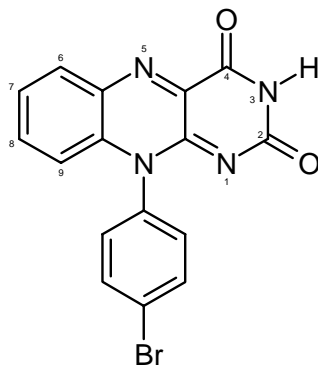
Schmp.: >300°C

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 6,75 (d, 1H, C₉-Flavin), 7,43 (d.d, 1H, C₇-Flavin), 7,44 (d.d, 1H, C₈-Flavin), 7,59-7,77 (m, 5H, Phenylring-Flavin),

8,18 (d, 1H, C₆-Flavin), 11,40 (s, 1H, NH-Flavin) ppm;
IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3453, 3035, 1720, 1665, 1611, 1582, 1547, 1512, 1488, 1461, 1431, 1401, 1355, 1271, 1200, 1111, 1030, 881, 772 cm⁻¹;
EI-MS 291 (MH⁺)

5.2.1.4 N-10-(4'-bromphenyl)-isoalloxazin (4)

Synthese analog AV1



| | |
|-------------------------------|------------------------------------|
| Ansatzgröße: 4,3g (14,67mmol) | 2-Nitro-(4'-bromphenyl)-anilin (2) |
| 26,22g (400mmol) | Zink |
| 150ml | Essigsäure |
| 2,95g (18,4mmol) | Alloxan.Hydrat |
| 2,45g (39,68mmol) | H ₃ BO ₃ |
| 50ml | Essigsäure |

C₁₆H₉BrN₄O₂ 369,18

Ausbeute: 4,28 g (11,589mmol, 79,0 %), grünes Pulver

Schmp.: >360°C

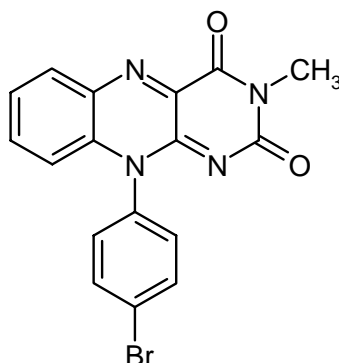
¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆): δ = 6,84 (dd; 1H; J = 8,5Hz, 0,7 Hz; C₉-Flavin); 7,41 (AA'; 2H; J = 8,6Hz; H(2'), H(6')-Phenylring); 7,59-7,78 (m; 2H, C₇, C₈-Flavin); 7,94 (BB'; 2H; J = 8,6Hz; H(3'), H(5')-Phenylring); 8,19(dd; 1H; J = 8,2Hz, 1,4 Hz; C₆-Flavin); 11,46 (s; br; N-H) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3168, 3067, 2828, 1711, 1689, 1616, 1583, 1554, 1487, 1401, 1313, 1271, 1200, 1110, 1015, 880, 846, 772, 724, 623, 492, 439 cm⁻¹;

EI-MS (PI-EIMS) 369 (MH⁺)

5.2.1.5 N-3-Methyl-N-10-(4-Bromphenyl)-isoalloxazin (5)

Synthese nach AV2



| | |
|------------------------------|--|
| Ansatzgröße: 2,0g (5,42mmol) | N-10-(4'-bromphenyl)-isoalloxazin (4) |
| 3,37ml (7,69g, 54,2mmol) | Methyljodid |
| 7,49g (54,2mmol) | K ₂ CO ₃ |
| 150ml | DMF |

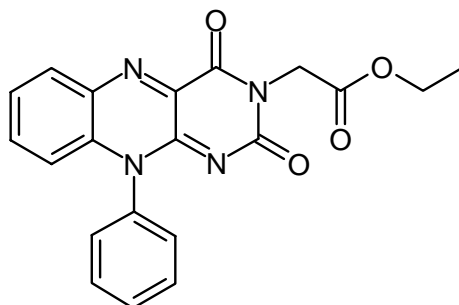
C₁₇H₁₁BrN₄O₂ 383,21**Ausbeute:** 1,295g (3,379 mmol, 62,4%), dunkelgrünes Pulver**Schmp.:** >300°C

¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆) δ = 3,26 (s, 3H, CH₃), 6,88 (d.d, 1H, C₉-Flavin), 7,43 (AA'BB', 2H, Phenylring), 7,64-7,77 (m, 2H, C₇, C₈-Flavin), 7,94 (AA'BB', 2H, Phenylring), 8,24 (d.d, 1H, C₆-Flavin) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3430, 3063, 1713, 1661, 1615, 1587, 1550, 1487, 1463, 1280, 1211, 1173, 1044, 985, 846, 771cm⁻¹;

EI-MS 383,2 (100 % M⁺), 381,2 (95% M-ΔH)⁺

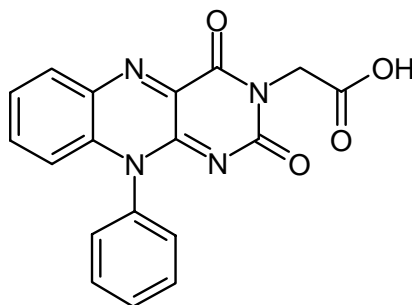
5.2.1.6 2-(N-10-Phenylisoalloxazin-3-yl)-essigsäure Ethylester (6)

Synthese analog Lit.^[13] und nach AV2

| | |
|--------------------------------|--------------------------------------|
| Ansatzgröße: 264mg (0,824mmol) | N-10-Phenylisoalloxazin (3) |
| 0,95ml (1,376g, 8,242mmol) | Bromessigsäureethylester |
| 1,14g (8,242mmol) | K ₂ CO ₃ |

50ml

DMF

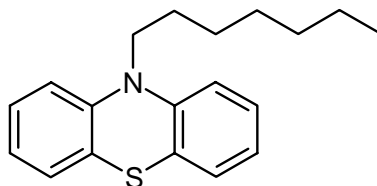
 $C_{20}H_{16}N_4O_4$ 376,36**Ausbeute:** 280mg (0,744mmol, 90,2%), gelbes Pulver**Schmp.:** 282-285°C **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ = 1,28 (m, 3H, CH_3 -Ethyl) 4,22 (m, 2H, CH_2 -Ethyl), 4,83 (s, 2H, CH_2 -Flavin), 6,91 (d.d, 1H, C_9 -Flavin), 7,30-7,72 (m, 7H; 2H, C_7+C_8 -Flavin; 5H, Phenylring-Flavin), 8,34 (d.d, 1H, C_6 -Flavin) ppm;**IR (KBr)** $\bar{\nu}$ = 3908, 3756, 3656, 2934, 1739, 1715, 1665, 1588, 1555, 1491, 1461, 1324, 1263, 1215, 1023, 762, $752cm^{-1}$;**EI-MS** 376 (M^+), 303,1 (Δ^+CO_2Et)**5.2.1.7 2-(N-10-Phenylisoalloxazin-3-yl)-essigsäure (7)**Synthese analog Lit.^[13]

In einen Rundkolben werden 180mg (0,478mmol) 2-(N-10-Phenylisoalloxazin-3-yl)-essigsäure Ethylester (**6**) 10ml konz. HCl und 3ml Wasser vorgelegt. Die Reaktionsmischung wird unter Rühren auf 90°C erhitzt. Nach 1h wird die Reaktion beendet. Zur entstandenen Lösung wird Wasser zugegeben, wobei das Produkt als Niederschlag ausfällt. Die Suspension lässt man abkühlen und dann wird das Produkt abgesaugt und getrocknet.

 $C_{18}H_{12}N_4O_4$ 348,30**Ausbeute:** 120mg (0,345 mmol, 72,0%), oranges Pulver**Schmp.:** >300°C **1H -NMR** (300 MHz, $DMSO-d_6$): δ = 4,55 (s, 2H, -N- CH_2), 4,63 (s, 1H, -COOH), 6,81 (d, 1H, C_9 -Isoalloxazin), 7,45-7,84 (m, 7H, Phenylring, C_7+C_8 -Isoalloxazin), 8,26 (d, 1H, C_6 -Isoalloxazin) ppm;**IR (KBr)** $\bar{\nu}$ = 3420, 1740, 1670, $1600cm^{-1}$;**ESI-MS** 349(MH^+), 697,4($2M+H^+$), 719,4($2M+Na^+$)

5.2.1.8 N-Heptylphenothiazin (8)

Synthese nach Lit.^[8], Analytik entsprechend Lit.^[14]



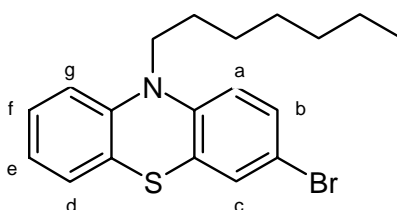
In einem ausgeheizten Schlenckkolben werden in 25ml getrocknetem DMSO 8g (40,14mmol) Phenothiazin gelöst und bei RT mit 3,20g (80,0mmol NaH) einer 60%-igen NaH-Suspension in Parafin versetzt. Bei der Zugabe setzt eine heftige Gasentwicklung ein, die mit einem Farbumschlag nach orange verbunden ist. Nach 20min lässt die Gasentwicklung deutlich nach, woraufhin 7ml (9,66g, 42,72mmol) Iodheptan zuge-
tropft werden. Die Farbe ändert sich nach gelbgrün. Die Reaktionsmischung wird bei 60°C gerührt, wobei sich nach 45min ein dicker Kristallbrei bildet. Nach vollständiger Umsetzung wird überschüssiges NaH mit Wasser hydrolysiert. Das Reaktionsprodukt wird mit insgesamt 200ml MC extrahiert. Die organische Phase wird zweimal mit Wasser gewaschen, um die DMSO-Reste zu entfernen. Danach wird die organische Phase über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Das Rohprodukt fällt als braunes Öl aus. Die Reinigung erfolgt mittels Chromatographie mit PE (40/60)/MC 4:1. Als reines Produkt erhält man ein gelbliches zähes Öl.

C₁₉H₂₃NS 297,48

Ausbeute: 11,904g (40,02 mmol, 100%), gelbliches Öl

5.2.1.9 3-Brom -N-heptylphenothiazin (9)

Synthese nach Lit.^[8, 15]



Vor der Synthese wird Pyridin-hydrobromid-perbromid aus Eisessig umkristallisiert, wobei pro Gramm Brom-Verbindung ca. 2 ml LM benötigt werden.

4,58g (15,40mmol) N-Heptylphenothiazin (8) werden im 30ml Benzol gelöst, mit 30ml Ethanol versetzt und im Eisbad auf 0°C gekühlt. Binnen 45 min werden 4,92g

(15,40mmol) Pyridin-hydrobromid-perbromid zugegeben, wobei ein Farbumschlag nach dunkelrot zu beobachten ist. Nach der letzten Zugabe wird die Reaktionsmischung weitere 10 min gerührt. Der Ansatz wird mit 100ml Wasser versetzt und mit insgesamt 250ml MC extrahiert. Die organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet und einrotiert. Das Rohprodukt scheidet als dunkelrotes Öl aus. Nach chromatographischer Reinigung mit PE (40/60) erhält man das Produkt als beiges Öl.

$\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{BrNS}$ 376,37

Ausbeute: 4,636g (12,32mmol, 80%), beiges Öl

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): δ = 0,86 (m, 3H, CH_3), 1,26-1,42 (m, 8H, Heptylrest), 1,68-1,83 (m, 2H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$), 3,79 (m, 2H, $\text{N-CH}_2\text{-}$), 6,68 (d, 1H, H_a), 6,83-6,94 (m, 2H, H_f und H_g), 7,09-7,24 (m, 4H, H_b , H_c , H_d und H_e) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3065, 2955, 2930, 2860, 1590, 1460, 1395, 1335, 1250, 1110, 805, 750cm^{-1} ;

EI-MS 377,3 ($\text{M}^{+\bullet}$), 292,1($(\text{M-C}_6\text{H}_{13})^{+\bullet}$), 278,0 ($(\text{M-C}_7\text{H}_{15})^{+\bullet}$)

5.2.1.10 3-(Tributylstannyl)-N-heptylphenothiazin (10)

Synthese nach Lit.^[8, 15]



In einem ausgeheizten Schlenckkolben werden in 20ml N_2 -gesättigtem, absolutem THF und 2,02g (5,37mmol) 3-Brom-N-heptylphenothiazin (**9**) gelöst und im Trockeneiskältebad auf -78°C abgekühlt. Nach der Zugabe von 3,52ml n-BuLi-Lsg. lässt man den Ansatz 20min bei ca. -60°C rühren. Nach erneuter Abkühlung auf -78°C werden 1,50ml (1,815g, 5,58mmol) Tributylzinnchlorid ($\rho = 1,21\text{g/cm}^3$) langsam zugespritzt. Die Reaktionsmischung lässt man unter Rühren binnen 16 h auf RT kommen, woraufhin sie mit 30ml Wasser vorsichtig hydrolysiert wird. Das Rohprodukt wird mit insgesamt 120ml MC extrahiert. Die organische Phase wird mit 40ml gesättigter NaHCO_3 -Lsg. gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und einrotiert. Das Rohprodukt fällt als gelbliches Öl aus. Auf weitere Reinigung wird verzichtet, da das Produkt für weitere Umsetzungen ausreichend rein ist.

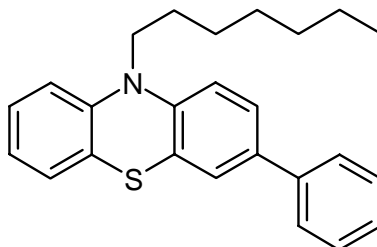
$\text{C}_{31}\text{H}_{49}\text{NSSn}$ 586,49

Ausbeute: 3,31g (5,64mmol, 100%), gelbbraunes Öl

IR (Film) $\bar{\nu}$ = 3065, 2960, 2925, 2855, 1590, 1565, 1465, 1380, 1335, 1290, 1250, 1085, 745 cm^{-1} ;

5.2.1.11 N-Heptyl-3-phenylphenothiazin (11)

Synthese analog Lit.^[16] und nach AV3



Ansatzgröße: 100mg (0,171mmol) 3-(Tributylstannyl)-N-heptylphenothiazin (**10**)
200mg (1,274 mmol) Brombenzol
10mg (5mol%) $(\text{Ph}_3\text{P})_4\text{Pd}$
25ml DMF/ N_2 -gesättigt

$\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{NS}$ 373,56

Ausbeute: 55mg (0,15 mmol, 87%), gelbes fluoreszentes Harz

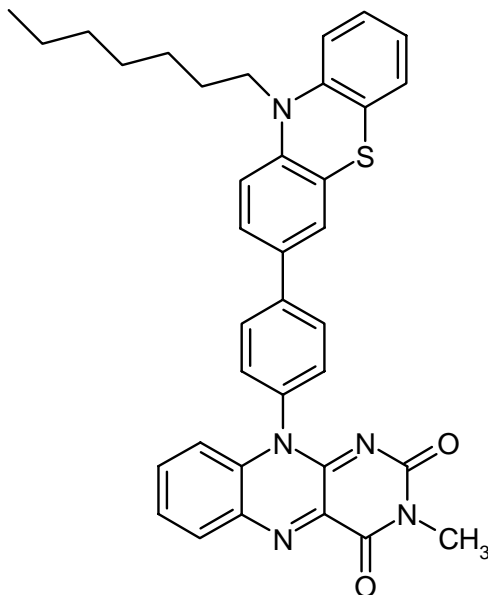
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, Aceton- d_6) δ = 0,84 (t, 3H, CH_3 -Heptyl), 1,28 (m, 6H, $3 \times \text{CH}_2$ -Heptyl), 1,48 (m, 2H, CH_2 -Heptyl), 1,82 (m, 2H, CH_2 -Heptyl), 3,98 (m, 2H, N- CH_2 -Heptyl), 6,90-7,65 (m, 12H; 7H, Phenothiazin; 5H, Phenyl) ppm;

IR (film) $\bar{\nu}$ = 3062, 3032, 2955, 2927, 2856, 1602, 1578, 1464, 1395, 1366, 1336, 1286, 1255, 1185, 1137, 1107, 1042, 884, 817, 755, 697 cm^{-1} ;

EI-MS 373,2 (M^+); 288,1 ($\Delta^+ \text{C}_6\text{H}_{13}$); 274,1 ($\Delta^+ \text{C}_7\text{H}_{15}$)

5.2.1.12 N-Heptyl-3-(N-3-methyl-isoalloxazin-N-10-phenyl)phenothiazin (12)

Synthese analog AV3

Ansatzgröße: 100mg (0,171mmol) 3-(Tributylstannyl)-N-heptylphenothiazin (**10**)63mg (0,171mmol) N-3-Methyl-N-10-(4-bromphenyl)isoalloxazin (**5**)10mg (5mol%) $(\text{Ph}_3\text{P})_4\text{Pd}$ 25ml DMF/ N_2 -gesättigt $\text{C}_{36}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ 599,68**Ausbeute:** 25mg (0,042 mmol, 24,4%), gelboranges Pulver**Schmp.:** 238-240°C

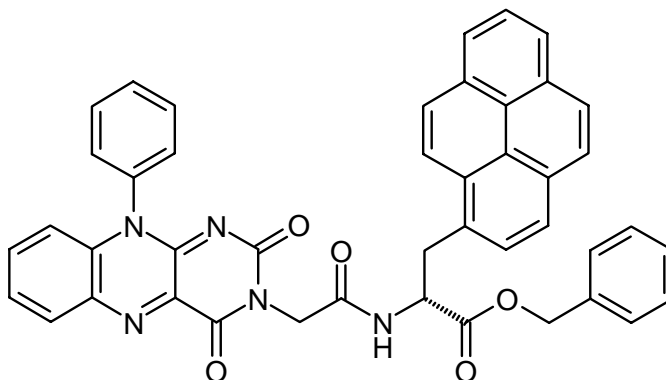
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 0,86 (t, 3H, CH_3 -Heptyl-Phenothiazin), 1,25 (m, 6H, 3x CH_2 -Heptylrest), 1,43 (m, 2H, CH_2 -Heptylrest), 1,74 (m, 2H, CH_2 -Heptylrest), 3,28 (s, 3H, N- CH_3 , Flavin), 3,94 (m, 2H, N- CH_2 -Heptylrest), 6,89-8,01 (m, 14H, 7xH-Phenothiazin, 4xH-Phenyl, 3xH-Flavin), 8,24 (d.d, 1H, C_6 -Flavin) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3908, 3756, 3656, 2932, 1748, 1710, 1655, 1585, 1542, 1517, 1466, 1383, 1280, 1123, 1042, 805, 773 cm^{-1} ;

NI-DCIMS 599,5 (M $^+$), 1198,5 (2M $^+$)

5.2.1.13 [1-Pyrenepropionsäure, α -[[[(4,10-dihydro-2,4-dioxo-10-phenylbenzo[g]pteridin-3(2H)-yl)acetyl]amino]-, phenylmethyl ester, (α R)] (13)

Synthese analog AV4.



Ansatzgröße: 70mg (0,201mmol) 2-(N-10-Phenylisoalloxazin-3-yl)-essigsäure (**7**)
 111mg (0,201mmol) L-Pyrenalaninbenzylester.Tosylat
 130mg (1,005mmol) HOAt
 96mg (0,502mmol) EDC
 40ml Methylenchlorid

C₄₄H₃₁N₅O₅ 709,77

Ausbeute: 110mg (0,155mmol, 77,1%), gelbes Pulver

Schmp.: 285-289°C

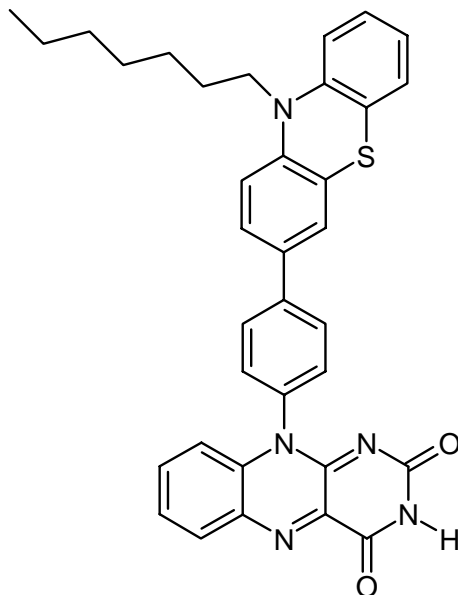
¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆): δ = 3,70-3,85 (m, 2H, CH₂-Pyren), 4,55 (d, 2H, CH₂-Flavin), 4,79 (m, 1H, CH-Pyrenalanin), 4,97 (d, 2H, CH₂-Phenyl), 6,81 (d.d, 1H, C₉-Isoalloxazin), 6,99 (m, 2H, Phenyl-H), 7,11-7,22 (m, 3H, Phenyl-H), 7,47-7,51 (m, 2H, Phenyl-H), 7,66-7,77 (m, 5H, 3xPhenyl-H, C₇, C₈-Isoalloxazin), 7,91 (m, 1H), 8,08 (m, 1H, Pyrenyl-H), 8,14-8,32 (m, 7H, Pyrenyl-H), 8,35 (m, 1H, Pyrenyl-H), 8,89 (d, 1H, C₆-Isoalloxazin) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3908, 3755, 3656, 2930, 1743, 1709, 1657, 1551, 1461, 1264, 1187, 1030, 847, 752, 697cm⁻¹;

ESI-MS 710,4 (MH⁺), 1420,8 (2M+H⁺)

5.2.1.14 N-Heptyl-3-(N-10-isoalloxazin-phenyl)phenothiazin (14)

Synthese analog AV3

Ansatzgröße: 318mg (0,542mmol) 3-(Tributylstannyl)-N-heptylphenothiazin (**10**)200mg (0,542mmol) N-10-(4'-bromphenyl)-isoalloxazin (**4**)31mg (5mol%) (Ph₃P)₄Pd50ml DMF/N₂-gesättigtC₃₅H₃₁N₅O₂S 585,73**Ausbeute:** 180mg (30,73mmol, 57%), gelbgrünes Pulver**Schmp.:** 287-290°C

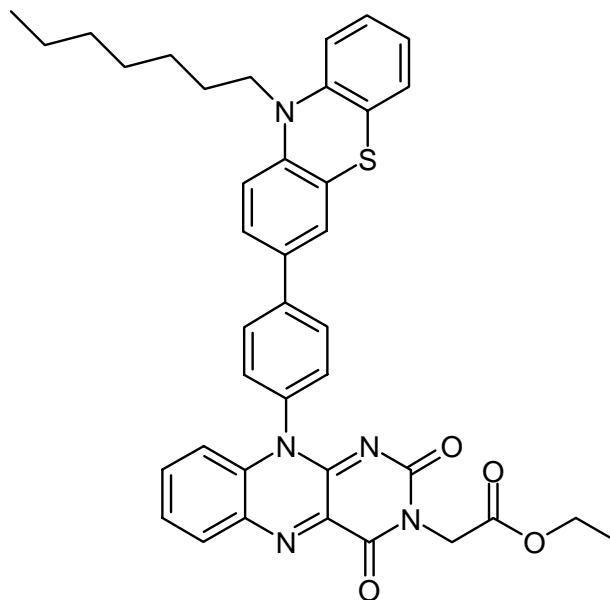
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ= 0,86 (t, 3H, CH₃-Heptylrest), 1,25 (m, 6H, 3xCH₂-Heptylrest), 1,43 (m, 2H, CH₂-Heptylrest), 1,74 (m, 2H, CH₂-Heptylrest), 3,94 (m, 2H, N-CH₂-Heptylrest), 6,85-8,09 (m, 14H, 7xH-Phenothiazin, 4xH-Phenyl, C₇, C₈, C₉-Flavin), 8,24 (d.d, 1H, C₆-Flavin), 11,36 (s; br; N-H) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3904, 3757, 3659, 2930, 1743, 1720, 1652, 1551, 1463, 1260, 1187, 1035, 841, 752cm⁻¹;

ESI-MS 586,5(MH⁺), 1172,4(2M+H⁺)

5.2.1.15 N-Heptyl-3-(N-3-carbethoxy-N-10-isoalloxazin-phenyl)phenothiazin (15)

Synthese analog Lit.^[13] und nach AV2



Ansatzgröße: 150mg (0,256mmol) N-Heptyl-3-(N-10-isoalloxazin-phenyl)phenothiazin (**14**)

0,3ml (0,428g, 2,561mmol) Bromessigsäureethylester

354mg (2,561mmol) K₂CO₃

30ml DMF

C₃₈H₃₇N₅O₄S 659,81

Ausbeute: 120mg (0,182mmol, 71,0%), gelbes Pulver

Schmp.: 222-226°C

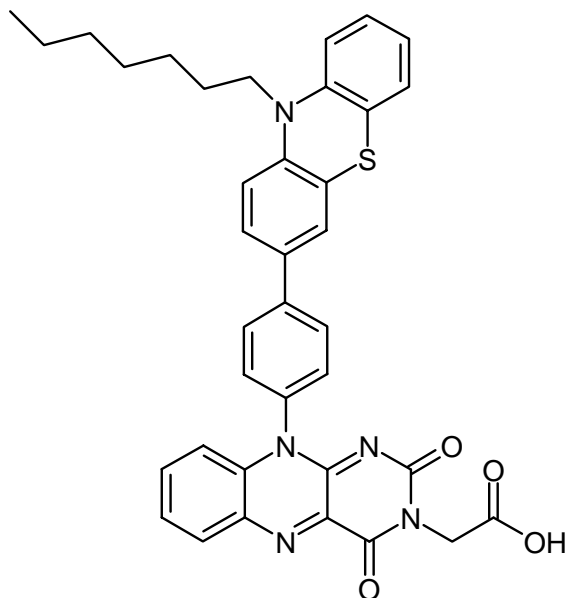
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 0,87 (t, 3H, CH₃, Heptylrest), 1,21-1,53 (m, 11H, CH₃-Ethyl, CH₂-Gruppen, Heptylrest), 1,85 (m, 2H, CH₂, Heptylrest), 3,89 (t, 2H, N-CH₂, Phenothiazin), 4,22 (m, 2H, CH₂-Ethyl), 4,84 (s, 2H, CH₂-Flavin), 6,85-7,83 (m, 14H), 8,35 (d.d, 1H, C₆-Flavin) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3905, 3753, 2932, 1748, 1715, 1656, 1585, 1548, 1509, 1466, 1383, 1276, 1123, 1042, 805, 773cm⁻¹;

ESI-MS 660,8(MH⁺), 1320,6(2M+H⁺)

5.2.1.16 10-(N-Heptyl-3-phenothiazinyl-(N-10-isoalloxazin-phenyl-N-3-yl))-essigsäure (16)

Synthese analog Lit.^[13]



In einen Rundkolben werden 120mg (0,256mmol) N-Heptyl-3-(N-3-carbethoxy-N-10-isoalloxazin-phenyl) (**15**) 10ml konz. HCl und 3ml Wasser vorgelegt. Die Reaktionsmischung wird unter Rühren auf 90°C erhitzt. Nach 1h wird die Reaktion beendet. Zur entstandenen Lösung wird Wasser zugegeben, wobei das Produkt als Niederschlag ausfällt. Die Suspension lässt man abkühlen und dann wird das Produkt abgesaugt und getrocknet.

$C_{36}H_{33}N_5O_4S$ 631,75

Ausbeute: 68mg (0,108mmol, 42,0%), gelbes Pulver

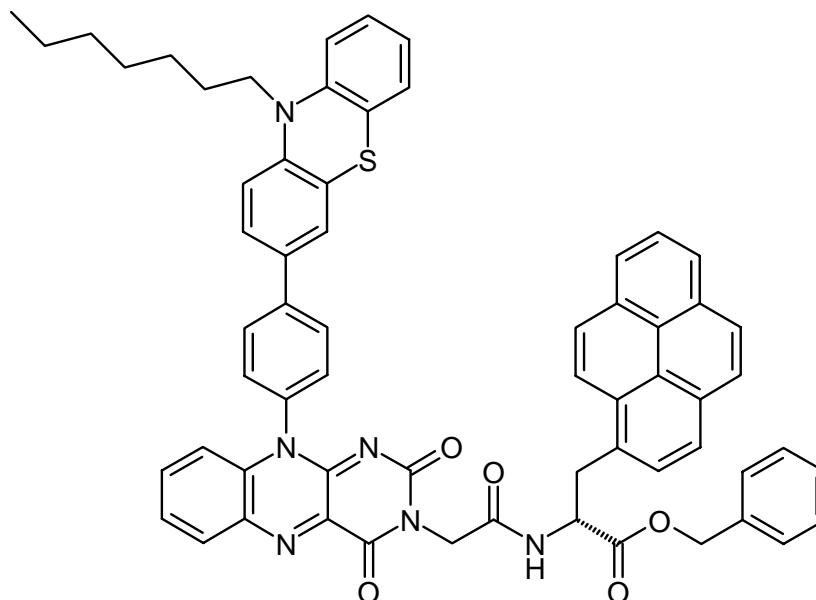
Schmp.: 175-179°C

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3446, 2928, 1750, 1719, 1668, 1617, 1587, 1557, 1488, 1463, 1260, 1209, 1016, 754 cm^{-1} ;

ESI-MS 633(MH⁺), 1265(2M+H⁺)

5.2.1.17 [1-Pyrenepropansäure, α -[[[10-[4-(10-heptyl-10H-phenothiazin-3-yl)phenyl]-4,10-dihydro-2,4-dioxobenzo[g]pteridin-3(2H)-yl]acetyl]amino]-phenylmethyl ester, (αR)] (17)

Synthese analog. AV4



Ansatzgröße: 68mg (0,106mmol) 2-(N-10-Phenylisoalloxazin-3-yl)-essigsäure (**16**)
 58mg (0,106mmol) L-Pyrenalaninbenzylester.Tosylat
 72mg (0,528mmol) HOAt
 96mg (0,264mmol) EDC
 30ml Methylenchlorid

$C_{63}H_{52}N_6O_5S$ 1005,22

Ausbeute: 44mg (0,044mmol, 41,3%), oranges Pulver

Schmp.: 262-263°C

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 0,89 (m, 3H, CH_3 -Heptylrest), 1,25-1,50 (m, 8H, 4x CH_2 -Heptylrest), 1,87 (m, 2H, CH_2 -Heptylrest), 3,87-3,94 (m, 4H, N- CH_2 -Heptylrest, CH_2 -Pyren), 4,74-4,82 (q, 2H, N- CH_2 -Flavin), 5,04 (d, 2H, CH_2 -Benzyl), 5,25 (m, 1H, CH-Pyrenalanin), 6,41 (d, 1H, Phenothiazin), 7,0 (d, 1H, C_9 -Isoalloxazin), 7,2-7,4 (m, 10H, Phenothiazin, Phenyl), 7,65-7,72 (m, 6H, 4xPhenyl, C_7 , C_8 -Isoalloxazin), 7,9-8,6 (m, 12H, Pyren, Phenyl, C_6 -Isoalloxazin, NH) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3056, 2924, 2853, 2601, 1739, 1714, 1656, 1614, 1602, 1585, 1573, 1556, 1539, 1484, 1463, 1407, 1392, 1388, 1346, 1288, 1265, 1238, 1213, 1184, 1159, 1130, 1108, 1037, 1018, 964, 937, 844, 808, 798, 769, 750, 696 cm^{-1} ;

FAB-MS 1005 (M^+)

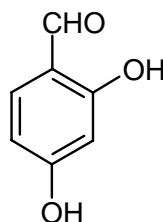
Elementaranalyse:

ber. : C 75,28; H 5,21; N 8,36; O 7,96; S 3,19;

gef.: C 75,47; H 5,34; N 8,23.

5.2.1.18 2,4-Dihydroxybenzaldehyd (18)

Synthese nach Lit.^[17]



In den Kolben werden 11g (0,1mol) und 10,22ml N,N-Dimethylformamid (0,1mol) vorgelegt. Unter Rühren werden 9,18ml (15,33g, 0,1mol) POCl₃ langsam zugetropft, wobei sich die Farbe in violett ändert und die Reaktionsmischung eindickt. Nach der letzten Zugabe lässt man den Ansatz 2h stehen. Es werden 150ml 50%-iger CH₃COONa-Lsg. in heißem Wasser zugegeben. Das Produkt wird mit insgesamt 250ml Ether ausgeäthert und einrotiert. Der ölige Rückstand wird unter Vakuum destilliert. Während der Destillation fällt das Produkt als farblose kristalline Masse aus. Die Kristalle werden abgesaugt und aus der Mischung (n-Hex/EE) 1:1 umkristallisiert.

C₇H₆O₃ 138,12

Ausbeute: 6,53g (47,277mmol, 47,3%), farblose Nadeln

Schmp.: 135-138°C

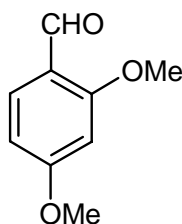
¹H-NMR (250 MHz, CD₃OD): δ= 4,89 (s, 2H, 2x -OH), 6,27 (s, 1H, C₃), 6,36 (d, 1H, C₅), 7,48 (d, 1H, C₆), 9,69 (s, 1H, -CHO) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3755, 3131, 1633, 1585, 1501, 1432, 1396, 1332, 1233, 1167, 1131, 975, 856, 806, 694, 636cm⁻¹;

EI-MS 138 (M^{•+})

5.2.1.19 2,4-Dimethoxybenzaldehyd (19)

Synthese nach Lit.^[18]



In einen Schlenckkolben werden unter N₂-Atmosphäre 6,5g (47mmol) 2,4-Dihydroxybenzaldehyd (**18**), 8,8ml (20,03g, 141mmol), 6,5g (47mmol) K₂CO₃ und

50ml absolutem Aceton vorgelegt. Der Ansatz wird unter Rühren 20h refluxiert. Die Reaktionsmischung wird anschließend filtriert und das LM einrotiert. Der zähflüssige Rückstand wird allmählich bei RT fest. Das Produkt wird von n-Hexan umkristallisiert.

$C_9H_{10}O_3$ 166,18

Ausbeute: 4,84g (29,158mmol, 62%), weiße Nadeln

Schmp.: 69-71°C

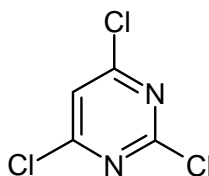
1H -NMR (250 MHz, $dCDCl_3$): δ = 3,89 (s, 6H, 2x -OCH₃), 6,44 (s, 1H, C₃), 6,55 (d, 1H, C₅), 7,81 (d, 1H, C₆), 10,29 (s, 1H, -CHO) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 2952, 2863, 2042, 1670, 1605, 1504, 1479, 1430, 1335, 1267, 1217, 1176, 1102, 1024, 828, 672, 461 cm^{-1} ;

EI-MS 166,1(M^{+})

5.2.1.20 2,4,6-Trichlorpyrimidin (20)

Synthese nach Lit.^[19]



In einen Dreihalskolben werden 17,02ml (16,27g, 0,147mol) N,N-Dimethylanilin und 28,85ml (48,18g, 0,113mol) Phosphoroxotrichlorid vorgelegt. Unter kräftigem Rühren wird zu der Lösung portionsweise 10g (0,078 mol) Barbitursäure zugegeben. Nach der letzten Zugabe wird der Ansatz auf 140°C erhitzt und 2h gerührt. Aus der violetten Lösung wird das überschüssige Phosphoroxotrichlorid an ÖVP abdestilliert. Der zähflüssige Rückstand wird auf 30g Eis gegossen und die entstandene gelbe Lösung sofort mit insgesamt 150ml Ether ausgeäthert. Die Ätherlösung wird über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Aus dem Rückstand wird unter Vakuumdestillation eine Flüssigkeit gewonnen.

$C_4HCl_3N_2$ 183,40

Ausbeute: 9,98 g (54,412mmol, 69,7%), farbloses Öl

Siedep.: 100°C (0,01 mbar);

1H -NMR (250 MHz, $CDCl_3$): δ = 7,38 (s, 1H, C₅) ppm;

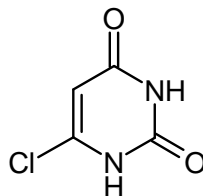
^{13}C -NMR δ = 76,7-77,3 (3x C-Cl), 120,1 (1x C-H,+) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3110, 1533, 1370, 1278, 1107, 835, 754 cm^{-1} ;

EI-MS 182,1(M^{+}), 147,1($M^{+}-Cl^{\bullet}$), 86,0 ($M^{+}-Cl_2CN$)

5.2.1.21 6-Chloruracil (21)

Synthese nach Lit.^[20]



In einen Rundkolben werden 19,95g (0,108mol) 2,4,6-Trichlorpyrimidin (**20**) und 175ml 2,5M NaOH-Lsg. vorgelegt. Der Ansatz wird unter Reflux 1h gerührt. Zu der heißen Lösung werden 43ml konz. HCl zugegeben. Das Produkt fällt aus und wird abgesaugt, mit Aceton gewaschen und getrocknet.

C₄H₃ClN₂O₂ 146,53

Ausbeute: 13,53g (92,33mmol, 84,9%), gelbliches Pulver

Schmp.: 291-292°C

¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆): δ= 5,75 (s, 1H, C₅), 11,30 (s, br, 1H, NH), 12,06 (s, br, 1H, NH) ppm;

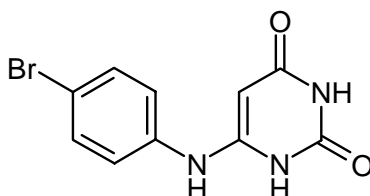
¹³C-NMR δ= 99,8 (1x C-H,+), 144,6 (1xC-Cl), 150,2 (1xC=O), 162,6 (1xC=O) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3098, 3002, 2909, 2809, 1950, 1839, 1735, 1658, 1602, 1498, 1440, 1414, 1335, 1130, 1032, 999, 845, 760, 547cm⁻¹;

ESI-MS 146(M^{•+}), 103,1(ΔHCNO), 68,1(ΔCl)

5.2.1.22 6-N-(p-Bromphenyl)-aminouracil (22)

Synthese nach Lit.^[21-23]



In einen Rundkolben werden 4g (27,3mmol) 6-Chloruracil (**21**), 9,39g (54,6mmol) p-Bromanilin und 100ml DMF vorgelegt. Die entstandene Lösung wird unter Reflux 12h gerührt. Das LM wird an ÖVP abgezogen und der Rückstand mit 100ml heißem Wasser versetzt. Die orange Suspension wird abgesaugt, mit kaltem Aceton gewaschen und getrocknet. Das Rohprodukt wird von Ethanol umkristallisiert.

C₁₀H₈BrN₃O₂ 282,10

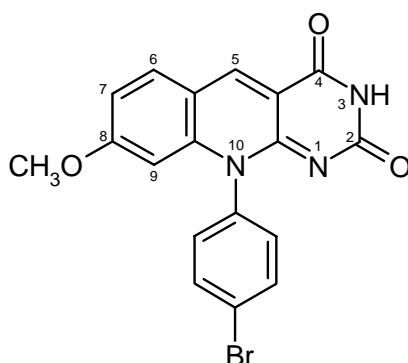
Ausbeute: 2,43mg (8,614mmol, 31,6%), hell oranges Pulver

Schmp.: >300°C

- ¹H-NMR** (250 MHz, DMSO-d₆): δ= 5,75 (s, 1H, C₆-Uracil), 7,16 (d, 2H, H_{AA'}H_{BB'}-Phenyl), 7,54 (d, 2H, H_{AA'}H_{BB'}-Phenyl), 8,40 (s, 1H, NH-Phenyl), 10,27 (s, br, 1H, NH-Uracil), 10,52 (s, br, 1H, NH-Uracil) ppm;
IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3193, 1725, 1652, 1631, 1584, 1544, 1490, 1464, 1399, 1336, 1298, 1235, 1074, 820, 748, 546cm⁻¹;
ESI-MS 283(MH⁺), 565(2M+H⁺)

5.2.1.23 8-Methoxy-N-10-(p-bromphenyl)-5-deazaflavin (23)

Synthese nach Lit.^[21, 23]



In einen Schlenckkolben werden 1,9g (6,74mmol) 6-N-(p-Bromphenyl)-aminouracil (**22**), 2g (12,04mmol) 2,4-Dimethoxybenzaldehyd (**19**) und 40 ml N₂-gesättigtes DMF vorgelegt. Der Ansatz wird unter Rühren 5h refluxiert. Das LM wird an ÖVP abgezogen, der Rückstand in 100ml Methanol suspendiert, aufgekocht und heiß filtriert. Das Produkt bleibt als hellgelber Feststoff auf dem Filterpapier. Dann erfolgt die Umkristallisierung aus Ethanol.

C₁₈H₁₂N₃O₃ 398,22

Ausbeute: 1,516g (0,239mmol, 56,5%), gelbes Pulver

Schmp.: >300°C

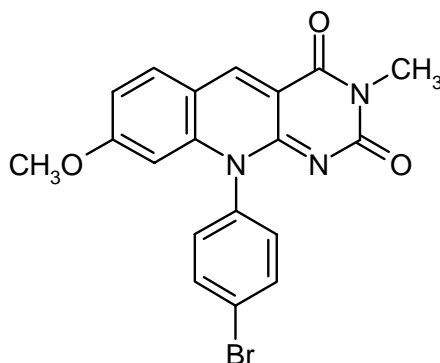
¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆): δ= 3,73 (s, 3H, CH₃O-), 6,06 (s, 1H, C₉), 7,20 (d, 1H, C₆), 7,42 (d, 2H, H_{AA'}H_{BB'}-Phenyl), 7,89 (d, 2H, H_{AA'}H_{BB'}-Phenyl), 8,19 (d, 1H, C₇), 9,03 (s, 1H, C₅), 10,97 (s, br, 1H, NH) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3471, 3162, 3037, 2810, 1694, 1664, 1602, 1553, 1493, 1403, 1279, 1242, 1179, 1120, 1017, 844, 799cm⁻¹;

EI-MS 399(M^{•+}), 398(ΔH), 355(ΔHCNO), 318,1(ΔBr), 275,1(ΔHCNO)

5.2.1.24 8-Methoxy-N-10-(p-bromphenyl)-N-3-methyl-5-deazaflavin (24)

Synthese analog AV2



Ansatzgröße: 1,5g (3,77mmol) 8-Methoxy-N-10-(p-bromphenyl)-5-deazaflavin (23)

2,35ml (5,35g, 37,67mmol) Methyljodid

5,21g (37,67mmol) K₂CO₃

100ml DMF

C₁₉H₁₄BrN₃O₃ 412,24

Ausbeute: 1,263g (3,064mmol, 81,3%), gelbe Kristalle

Schmp.: >300°C

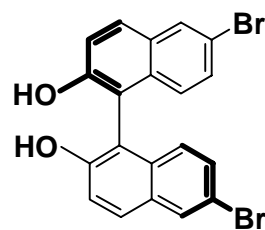
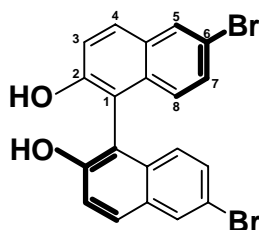
¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ= 3,42 (s, 3H, -N-CH₃), 3,76 (s, 3H, -O-CH₃), 6,21 (d, d, 1H, C₉, J₉₋₇= 2,33Hz, J₉₋₅= 0,62Hz), 7,04 (t, 1H, C₇, J₇₋₆= 8,84Hz, J₇₋₉= 2,33 Hz), 7,17 (H_{AA'}BB', 2H, Phenylring), 7,78 (H_{AA'}BB', 2H, Phenylring), 7,85 (d, 1H, C₆, J₆₋₇= 8,84Hz), 8,89 (d, 1H, C₅, J₅₋₉= 0,62Hz) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3451, 1702, 1649, 1608, 1538, 1498, 1465, 1408, 1279, 1241, 1185, 1118, 1016, 835, 793cm⁻¹;

EI-MS 412(M⁺), 411(ΔH), 354,9(ΔCH₃NCO), 332,1(ΔBr), 275,1(ΔCH₃NCO)

5.2.1.25 R- und S-6,6'-Dibrom-1,1'-bi-2-naphthol (R-25, S-25)

Synthese nach Lit.^[24]



In einem Rundkolben wird 24,4g (90 mmol) FeCl₃·6H₂O in 100ml Wasser gelöst und auf 70°C erwärmt. Zu dieser Lösung wird 10g (44,83 mmol) 6-Brom-2-naphthol zugegeben und die entstandene Suspension wird 18h bei 75°C gerührt. Nach Beendigung der

Reaktion wird der Feststoff abgesaugt, aus Toluol zweimal umkristallisiert und an ÖVP getrocknet.

$C_{20}H_{12}Br_2O_2$ 444,12

Ausbeute: 7,24g (16,3mmol, 72,7 %) beiges Pulver

Enantiomerentrennung von racemischen 25 mit N-Benzylcinchonidiniumchlorid analog Lit^[24, 25].

7,2g (16,21mmol) 6,6'-Dibrom-1,1'-bi-2-naphthol und 3,41g (8,105mmol) N-Benzylcinchonidiniumchlorid werden in 125ml Acetonitril gelöst und 5h refluxiert. Nach kurzer Zeit fällt ein Feststoff aus. Es wird weitere 15h bei RT und schließlich im Eiswasserbad gerührt. Der gebildete Niederschlag wird abgesaugt, mit kaltem Acetonitril nachgewaschen und an ÖVP getrocknet. Das Filtrat wird separat aufgearbeitet.

1:1 Einschlußkomplex

Ausbeute: 6,23g (7,201mmol, 89,2 %) beiges Pulver

R-6,6'-Dibrom-1,1'-bi-2-naphthol (77 % ee), R-25

Der 1:1 Einschlusskomplex 6,23g (7,201mmol) wird über Nacht in 100ml Methanol refluxiert. Nach Abziehen des Methanols wird der Rückstand in Ethylacetat suspendiert und durch Zugabe von 20ml 1M HCl gelöst. Die organische Phase wird mit 1M HCl und NaCl-Lsg. gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das LM einrotiert. Das Produkt wird anschließend an ÖVP getrocknet.

Ausbeute: 2,57g (5,78mmol, 71,3 %) beiges Pulver

Schmp.: 197 °C

1H -NMR (250 MHz, $CDCl_3$): δ = 5,04 (s, 2H, -OH), 6,96 (d, 2H, $J=8,7Hz$, H^8), 7,37 (dd, 2H, $J=8,7Hz$, $J=2,0Hz$, H^7), 7,39 (d, 2H, $J=9,1Hz$, H^3), 7,89 (d, 2H, $J=9,1Hz$, H^4), 8,05 (d, 2H, $J=2,0Hz$, H^5) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3395, 1619, 1588, 1497, 1339, 1269, 1170, 1149, 930, 879, 814, 674 cm^{-1} ;

EI-MS 444,1(M^{+})

$[\alpha]_{589}^{20} = -25.9$ (c=0,205 in THF).

S-6,6'-Dibrom-1,1'-bi-2-naphthol (99 % ee), S-25

Nach Abrotieren des LMs wird der ölige Rückstand in 35ml Ethylacetat gelöst. Die Lösung wird nacheinander mit 1M HCl und NaCl-Lsg. gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das LM einrotiert. Der ölige Rückstand wurde mit MC verdünnt und mit Toluol versetzt. Die Lösung wurde in den Kühlschrank gestellt. Danach wird der ausgefallene Feststoff abgesaugt und an ÖVP getrocknet.

Ausbeute: 2,98g (6,723mmol, 82,9%) graues Pulver

Schmp.: 196 °C

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ= 5,04 (s, 2H, -OH), 6,96 (d, 2H, J=8,7Hz, H⁸), 7,37 (dd, 2H, J=8,7Hz, J=2,0Hz, H⁷), 7,39 (d, 2H, J=9,1Hz, H³), 7,89 (d, 2H, J=9,1Hz, H⁴), 8,05 (d, 2H, J=2,0Hz, H⁵), ppm;

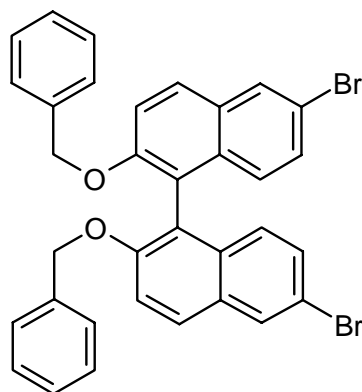
IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3395, 1620, 1589, 1498, 1340, 1269, 1172, 1149, 931, 879, 814, 674cm⁻¹;

EI-MS 444,1(M^{•+})

$[\alpha]_{589}^{20} = +30.9$ (c=0,194 in THF).

5.2.1.26 S-6,6'-Dibrom-2,2'-dibenzoyloxy-1,1'-binaphtyl (S-26)

Synthese analog AV6 und nach Lit.^[26]



Ansatzgröße: 741mg (1,667mmol)

S-6,6'-Dibrom-1,1'-bi-2-naphthol (99% ee)

(S-25)

400mg (16,67mmol)

NaH

1,98ml (2,85g, 16,67mmol)

Benzylbromid

30ml

DMF

C₃₄H₂₄Br₂O₂ 624,38

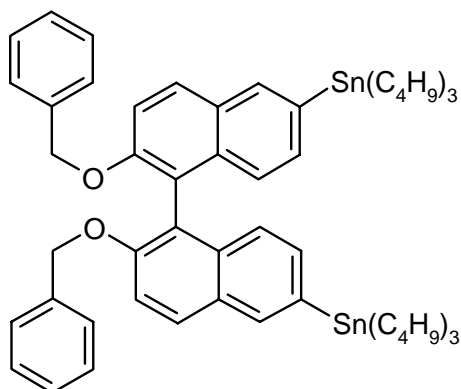
Ausbeute: 445mg (0,713mmol, 42,7%), beige Kristalle

Schmp.: 78-83°C

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): δ = 5,04 (s, 2H, O- CH_2 -Phenyl), 6,93 (m, 7H, H^7 , H^8 , Phenylring), 7,39 (d, 1H, H^3), 7,89 (d, 1H, H^4), 8,02 (d, 1H, H^5) ppm;
IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3062, 2938, 1612, 1585, 1492, 1462, 1340, 1322, 1265, 1176, 1138, 1070, 952, 898, 802, 563cm^{-1} ;
EI-MS 623,9($\text{M}^{+\bullet}$), 544($\Delta\text{Br}^{+\bullet}$), 91,3(C_7H_7^{+})

5.2.1.27 S-6,6'-Bis(tributylstannyl)-2,2'-dibenzoyloxy-1,1'-binaphtyl (S-27)

Synthese analog Lit.^[8, 27]



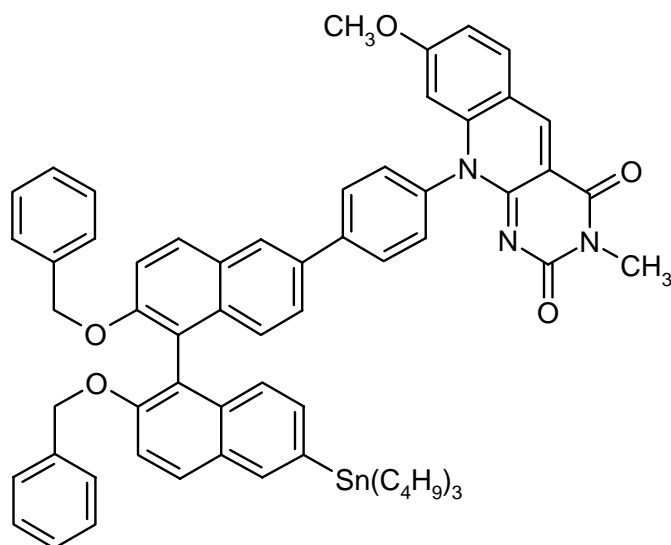
In einem ausgeheizten Schlenckkolben werden in 20ml N_2 -gesättigtem, absolutem THF 0,718g (1,15mmol) S-6,6'-Dibrom-2,2'-dibenzoyloxy-1,1'-binaphtyl (**S-26**) gelöst und im Trockeneiskältebad auf -78°C abgekühlt. Nach der Zugabe von 1,72ml (172mg, 2,69mmol) n-BuLi-Lsg. lässt man den Ansatz 20 min bei ca. -60°C rühren. Nach erneuter Abkühlung auf -78°C werden 0,644ml (772mg, 2,373mmol) Tributylzinnchlorid ($\rho = 1,21\text{g/cm}^3$) langsam zugespritzt. Die Reaktionsmischung lässt man unter Rühren binnen 16h auf RT kommen, woraufhin mit 10ml Wasser vorsichtig hydrolysiert wird. Das Rohprodukt wird mit insgesamt 50ml MC extrahiert. Die organische Phase wird mit 15ml gesättigter NaHCO_3 -Lsg. gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und einrotiert. Das Rohprodukt scheidet als gelbliches Öl aus. Auf eine weitere Reinigung wird verzichtet, da das Produkt für weitere Umsetzungen ausreichend rein ist.

$\text{C}_{58}\text{H}_{78}\text{O}_2\text{Sn}_2$ 1044,74

Ausbeute: 1,152g (1,103mmol, 95,9%), gelbes Öl

5.2.1.28 S-6-Deazaflavin-6'-tributylstannyl-2,2'-dibenzyloxy-1,1'-binaphtyl (S-28)

Synthese analog AV3



Ansatzgröße: 1,152g (1,103mmol) S-6,6'-Bis(tributylstannyl)-2,2'-dibenzyloxy-1,1'-binaphtyl (S-27)

227mg (0,552 mmol) 8-Methoxy-N-10-(p-bromphenyl)-N-3-methyl-5-deazaflavin (24)

32mg (5mol%) (Ph₃P)₄Pd

30ml DMF/N₂-gesättigt

C₆₅H₆₅N₃O₅Sn 1086,99

Ausbeute: 260mg (0,239mmol, 43,3%), gelbliches zähes Öl

Schmp.: -°C

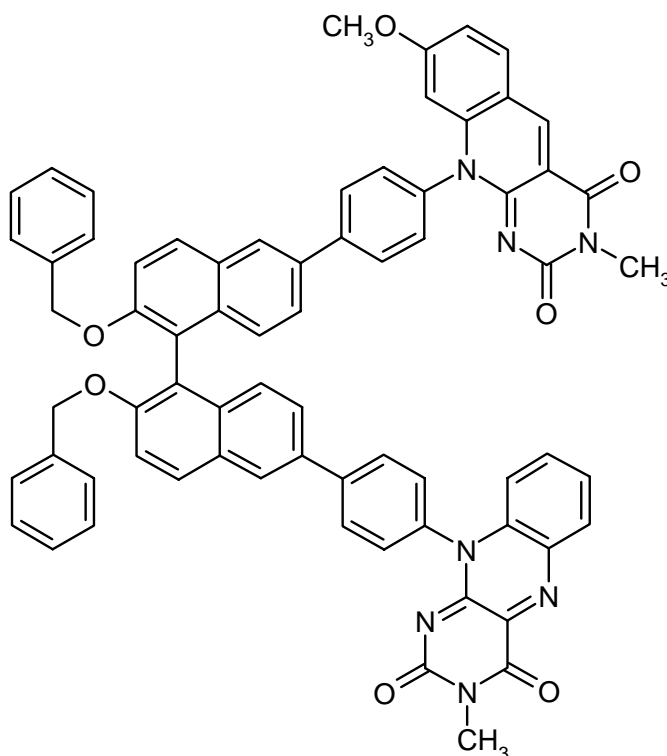
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ= 0,92 (t, 9H, 3xCH₃-Butyl), 1,04-1,68 (m, 18H, CH₂-Gruppen-Butyl), 3,45 (s, 3H, -N-CH₃), 3,69 (s, 3H, -O-CH₃), 4,99 (s, 4H, -O-CH₂-Phenyl), 6,15 (d.d, 1H, C₉-Deazaflavin), 6,67-6,89 (m, 14H, 2xH⁷, 2xH⁸, 2xBenzyl), 7,02 (t, 1H, C₇-Deazaflavin), 7,15 (H_{AA'}BB', 2H, Phenylring), 7,36 (d, 2H, 2xH³), 7,74 (H_{AA'}BB', 2H, Phenylring), 7,85 (m, 3H, C₆-Deazaflavin, 2xH⁴), 8,01 (d, 2H, 2xH⁵), 8,83 (d, 1H, C₅-Deazaflavin) ppm;

IR (Nujol) $\bar{\nu}$ = 3455, 3036, 2957, 2925, 2872, 2853, 1709, 1646, 1612, 1498, 1463, 1279, 1241, 1185, 1016, 930, 898, 835, 793cm⁻¹;

ESI-MS 1087,6(MH⁺)

5.2.1.29 S-6-Deazaflavin-6'-Isoalloxazin-2,2'-dibenzyloxy-1,1'-binaphtyl (S-29)

Synthese analog AV3



Ansatzgröße: 260mg (0,239mmol) S-6-Deazaflavin-6'-tributylstannyl-2,2'-
dibenzyloxy-1,1'-binaphtyl (**S-28**)

92mg (0,239 mmol) N-3-Methyl-N-10-(4-Bromphenyl)-isoalloxazin (**5**)

14mg (5mol%) $(\text{Ph}_3\text{P})_4\text{Pd}$

25ml DMF/ N_2 -gesättigt

$\text{C}_{70}\text{H}_{49}\text{N}_7\text{O}_7$ 1100,19

Ausbeute: 34mg (0,031mmol, 12,9%), gelb-oranges Pulver

Schmp.: 180°C

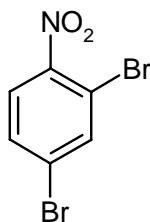
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 3,44 (s, 3H, -N-CH₃ - Deazaflavin), 3,52 (s, 3H, -N-CH₃ - Flavin), 3,72 (s, 3H, -O-CH₃ - Deazaflavin), 5,14 (s, 4H, 2x -CH₂-O-Binaphtyl) 6,33 (d.d, 1H, C₉-Deazaflavin), 7,00-7,73 (m, 24H, 8xH-Phenylbrücken, 10xH-Benzyl, 2xH³, 2xH⁸, C₉-Flavin, C₇-Deazaflavin), 7,85 (d, 1H, C₆-Deazaflavin), 7,95 (m, 4H, 2xH⁴, C₇,C₈-Flavin), 8,07 (d, 2H, 2xH⁵), 8,18 (d.d, 2H, H⁷), 8,37 (d.d, 1H, C₆-Flavin), 8,93 (d, 1H, C₅-Deazaflavin) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3438, 2931, 1704, 2662, 1608, 1605, 1559, 1547, 1457, 1275, 1245, 1124, 1028 cm^{-1} ;

ESI-MS 1100,5(MH⁺), 550,9 (M+2H⁺)²⁺, 2223,1(2M+Na⁺)

5.2.1.30 2,4-Dibromnitrobenzol (30)

Synthese nach Lit.^[28]



In ein Becherglas werden 1,25g (5,3mmol) 1,3-Dibrombenzol und 20ml konz. H_2SO_4 vorgelegt. Der Ansatz wird auf 0°C abgekühlt. Zu der Suspension wird portionsweise frisch vorbereitetes Harnstoff.Nitrat zugegeben. Nach der letzten Zugabe wird die Reaktionsmischung noch weitere 5min bei 0°C gerührt. Es werden 20ml Wasser zugegeben und mit insgesamt 50ml MC extrahiert. Die organische Phase wird mit NaHCO_3 -Lsg. gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und einrotiert. Das Rohprodukt fällt erst als gelbliches Öl aus, das allmählich fest wird. Auf eine weitere Reinigung wird verzichtet, da das Produkt für weitere Umsetzungen ausreichend rein ist.

$\text{C}_6\text{H}_3\text{Br}_2\text{NO}_2$ 280,89

Ausbeute: 1,15 g (4,094 mmol, 77%), gelbliches Pulver

Schmp.: 60°C (Lit.: 61°C);

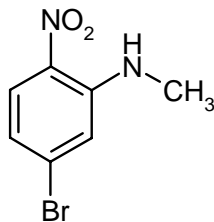
$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,60$ (dd; 1H, C_3), 7,80 (d; 1H, C_5), 7,96 (d, 1H, C_6) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu} = 3094, 1572, 1519, 1454, 1360, 1336, 1287, 1086, 1038, 855, 830, 742, 675, 491, 426\text{cm}^{-1}$;

EI-MS PI-EIMS 281,2 (M^+), 251,5 ($\text{M}-\text{NO}^+$)

5.2.1.31 5-Bromo-N-methyl-2-nitroanilin (31)

Synthese nach Lit.^[28, 29]



In einen Rundkolben werden 1,5g (5,34mmol) 2,4-Dibromnitrobenzol (**30**), 40ml 40% wässriger CH_3NH_2 -Lsg. und 40 ml Ethanol vorgelegt. Der Ansatz wird 2h refluxiert und weitere 18h bei RT stehen lassen. Das Produkt fällt als gelbe kristalline Masse aus,

die abgesaugt, mit kaltem Wasser und anschließend mit kaltem Ethanol gewaschen wird. Die Kristalle werden an ÖVP getrocknet.

$C_7H_7BrN_2O_2$ 231,04

Ausbeute: 0,93g (4,025mmol, 75%), gelbe Kristalle

Schmp.: 115°C

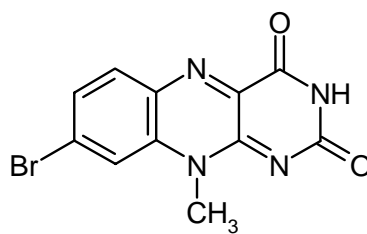
1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 3,02 (s, 3H, N- CH_3), 6,77 (d, 1H, H₆), 7,01 (s, 1H, NH), 8,01 (d, 1H, C₄), 8,04 (d, 1H, C₃) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3394, 1618, 1567, 1502, 1436, 1407, 1337, 1317, 1263, 1216, 1170, 1048, 882, 843, 745 cm^{-1} ;

EI-MS PI-EIMS 230,3 ($M^{•+}$)

5.2.1.32 8-Bromo-N-10-methylisoaloxazin (32)

Synthese analog AV1



Ansatzgröße: 1,236g (5,35mmol) 5-Bromo-N-methyl-2-nitroanilin (**31**)

8,74g (133mmol) Zink

50 ml Essigsäure

1,07g (6,687mmol) Alloxan.Hydrat

2,45g (13,375mmol) H_3BO_3

30ml Essigsäure

$C_{11}H_7BrN_4O_2$ 307,08

Ausbeute: 1,5g (4,885 mmol, 70%), gelbgrünes Pulver

Schmp.: >360°C

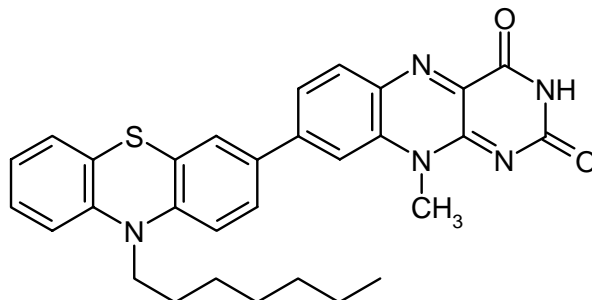
1H -NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$): δ = 3,93 (s, 3H, N(10)- CH_3), 7,80 (d, 1H, C₆), 8,04 (d, 1H, C₇), 8,19 (s, 1H, C₉), 11,46 (s, 1H, N(3)H) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3546, 3207, 2820, 1721, 1549, 1453, 1413, 1194, 810 cm^{-1} ;

EI-MS PI-EIMS 308($M^{•+}$), 262,9($\Delta HCNO$)

5.2.1.33 8-(N-Heptylphenothiazin-3-yl)-N-10-methylisoalloxazin (33)

Synthese analog AV3



Ansatzgröße: 100mg (0,171mmol) 3-(Tributylstannyl)-N-heptylphenothiazin (**10**)

53mg (0,171 mmol) 8-Bromo-N-10-methylisoalloxazin (**32**)

10mg (5mol%) (Ph₃P)₄Pd

25ml DMF/N₂-gesättigt

C₃₀H₂₉N₅O₂S 523,66

Ausbeute: 40mg (0,076mmol, 44,7%), violetes Pulver

Schmp.: 280-283°C

¹H-NMR (300 MHz, CD₂Cl₂): δ= 0,87 (m, 3H, CH₃), 1,26-1,51 (m, 8H, Heptylrest), 1,78-1,88 (m, 2H, N-CH₂-CH₂-), 3,91 (m, 2H, N-CH₂-), 4,16 (s, 3H, N(10)-CH₃-Flavin), 6,92-7,02 (m, 3H, H_a, H_f und H_g), 7,13-7,22 (m, 4H, H_b, H_c, H_d und H_e), 7,74 (s, 1H, C9), 7,86 (d, 1H, C7), 8,24 (d, 1H, C6), 8,50 (s, 1H, N(3)H) ppm;

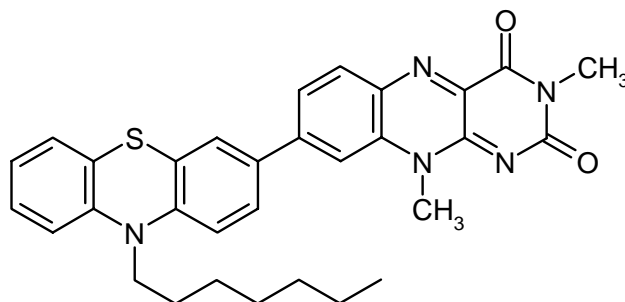
IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3570, 2928, 1720, 1703, 1681, 1655, 1560, 1510, 1497, 1266, 1130cm⁻¹;

EI-MS PI-EIMS 523,1(M⁺), 481,1(ΔHCNO)

ESI-MS 524,3(MH⁺), 1047,6(2M+H⁺)

5.2.1.34 8-(N-Heptylphenothiazin-3-yl)-N-3,10-dimethylisoalloxazin (34)

Synthese analog AV2



Ansatzgröße: 30mg (0,057mmol)

8-(N-Heptylphenothiazin-3-yl)-N-10-methylisoalloxazin (**33**)

| | |
|--------------------------|--------------------------------|
| 0,04ml (81mg, 0,573mmol) | Methyljodid |
| 79mg (0,573mmol) | K ₂ CO ₃ |
| 5ml | DMF |

C₃₁H₃₁N₅O₂S 537,69

Ausbeute: 23,6mg (0,044mmol, 77%), violette Pulver

Schmp.: 209-211°C

¹H-NMR (300 MHz, CD₂Cl₂): δ= 0,87 (m, 3H, CH₃), 1,26-1,51 (m, 8H, Heptylrest), 1,78-1,88 (m, 2H, N-CH₂-CH₂-), 3,43 (s, 3H, -N(3)-CH₃-Flavin), 3,92 (m, 2H, N-CH₂-), 4,17 (s, 3H, N(10)-CH₃-Flavin), 6,92-7,02 (m, 3H, H_a, H_f und H_g), 7,13-7,22 (m, 4H, H_b, H_c, H_d und H_e), 7,74 (s, 1H, C₉-Flavin), 7,86 (d, 1H, C₇-Flavin), 8,23 (d, 1H, C₆-Flavin) ppm;

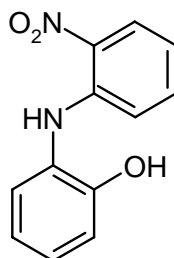
IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3446, 2927, 1705, 1657, 1557, 1467, 1356, 1284, 1259, 1211, 1024, 970, 804cm⁻¹;

EI-MS PI-EIMS 537,1(M^{•+}), 452,0(ΔCH₃NCO)

5.2.2 Phototropin-Modellsysteme

5.2.2.1 N-(2'-nitro-1'-phenyl)-2-aminophenol (35)

Synthese analog Lit.^[7]



In einem ausgeheizten Dreihalskolben mit Innenthermometer und Tropftrichter werden unter N₂-Atmosphäre 412mg (3,779mmol) 2-Aminophenol und 1,06 g pulverisierte KOH in ca. 10ml abs. DMSO vorgelegt. Unter Eiskühlung tropft man innerhalb einer Stunde 0,5ml (0,665g; 4,713mmol) 2-Fluor-1-nitrobenzol zu, wobei die Temperatur der Lösung zwischen 15°C und 17°C betragen sollte. Anschließend lässt man sie 3 h bei dieser Temperatur rühren. Die violette Lösung wird in 500 ml eiskaltes Wasser gegossen und mit konz. HCl neutralisiert. Das Rohprodukt wird in CH₂Cl₂ aufgenommen, die organische Phase wird abgetrennt, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Den schwarzen Rückstand chromatographiert man an SiO₂ mit Toluol.

C₁₂H₁₀N₂O₃ 230,22

Ausbeute: 462mg (2,007mmol, 53,2%), braune Nadeln

Schmp.: 140-142°C

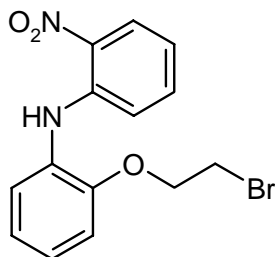
¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ= 5,49 (s, 1H, -OH), 6,70-7,44 (m, 7H, Phenylringe), 8,23 (d, 1H, C₃'), 9,00 (s, 1H, NH) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 2980, 2800 cm⁻¹;

ESI-MS 231(MH⁺), 461,3(2M+H⁺)

5.2.2.2 1-(N-2'-Nitrophenyl-2-amino-1-phenoxy)-2-bromethan (36)

Synthese analog Lit.^[30]



In einen Rundkolben werden 2,166g (8,588mmol) Natrium N-(2'-nitro-1'-phenyl)-2-aminophenolat (**35**), 2,96ml (6,454g, 34,352mmol) 1,2-Dibromethan und 50ml Ethanol vorgelegt. Der Ansatz wird unter Reflux 8h gerührt. Der Reaktionsverlauf wird mittels DC kontrolliert. Nach Beendigung der Reaktion wird das LM abrotiert, das Rohprodukt in MC aufgenommen. Die organische Phase wird mehrmals mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie PE(40/60)/EE 2:1.

C₁₄H₁₃BrN₂O₃ 337,18

Ausbeute: 1,284g (3,808mmol, 44,3%), braunes Öl

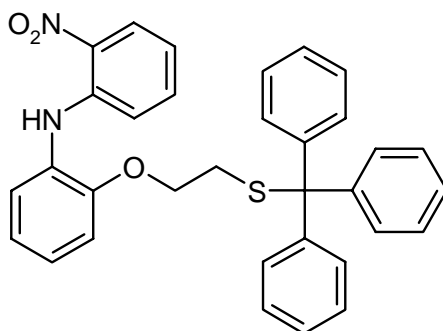
Schmp.: -°C

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 3,66 (t, 2H, H_{AA'}XX', -CH₂Br), 4,38 (t, 2H, H_{AA'}XX', -CH₂O-), 6,79-7,48 (m, 7H, Phenylringe), 8,25 (d, 1H, α zu NO₂), 9,56 (s, 1H, NH) ppm;

IR (Nujol) $\bar{\nu}$ = 3331, 3083, 2981, 2794, 1618, 1582, 1504, 1424, 1351, 1323, 1262, 1223, 1146, 1073, 1041, 804, 736, 506 cm⁻¹;

ESI-MS 338(MH⁺), 675(2M+H⁺)

5.2.2.3 N-1-(2'-Nitrophenyl)-2-(2-tritylsulfanyl-ethoxy)-phenylamin (37)

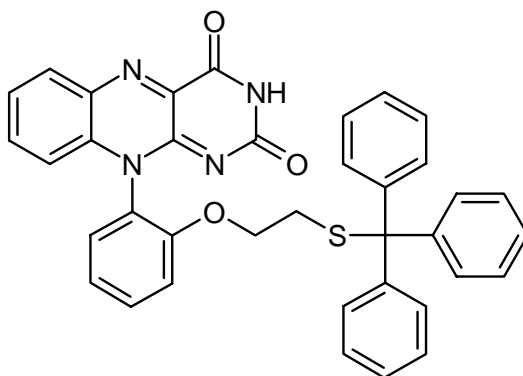
Synthese analog Lit.^[31]

In einen Schlenckkolben werden unter N₂-Atmosphäre 30ml abs. THF und 153mg (3,807mmol) 60%-iges NaH in Paraffin vorgelegt. Der Ansatz wird auf 0°C abgekühlt. Anschließend wird 1,053g (3,808mmol) Triphenylmethylmercaptan portionsweise zugegeben. Nach der letzten Zugabe wird die entstandene Lösung 10min lang bei RT gerührt. Danach wird die Lösung erneut auf 0°C abgekühlt und 1,248g (3,808mmol) 1-(N-2'-Nitrophenyl-2-amino-1-phenoxy)-2-bromethan (**36**) auf einmal zugegeben. Die Kühlung wird entfernt und der Ansatz 20min bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wird das LM abgezogen, das Rohprodukt in 20ml Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wird mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Das zähflüssige Produkt wird mit PE(40/60) gewaschen, wobei Edukte und Nebenprodukte in der Lösung bleiben und das Produkt ausfällt.

C₃₃H₂₈N₂O₃S 532,67**Ausbeute:** 1,288g (2,418mmol, 63,5%), oranges Pulver**Schmp.:** 156-161°C**¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ= 2,60 (t, 2H, H_{AA'}X_{X'}, -CH₂-S), 3,70 (t, 2H, H_{AA'}X_{X'}, -CH₂-O), 6,62-7,41 (m, 22H, Phenylringe), 8,17 (d, 1H, α zu NO₂), 9,41 (s, 1H, NH) ppm;**IR (KBr)** $\bar{\nu}$ = 3441, 2983, 2805, 1715, 1660, 1552, 1491, 1270, 756cm⁻¹;**FD-MS** PI-FDMS 532,4(M^{•+})

5.2.2.4 N-10-[2-(2-Tritylsulfanyl-ethoxy)-phenyl]-isoalloxazin (38)

Synthese analog AV1



Ansatzgröße: 103mg (0,193mmol) N-1-(2'-Nitrophenyl)-2-(2-tritylsulfanyl-ethoxy)-phenylamin (**37**)

316mg (4,834mmol) Zink

20 ml Essigsäure

38,7mg (0,242mmol) Alloxan.Hydrat

32,3mg (0,522mmol) H₃BO₃

20ml Essigsäure

C₃₇H₂₈N₄O₃S 608,72

Ausbeute: 37mg (0,061mmol, 31,4%), gelbgrünes Pulver

Schmp.: 281-283°C

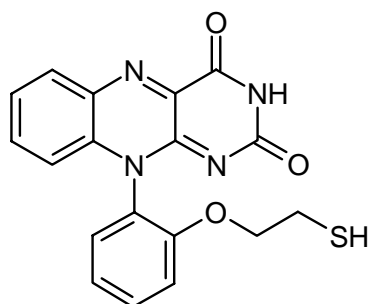
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 2,08 (m, 2H, -CH₂-S-), 3,85 (m, 2H, -CH₂-O-), 6,82 (d, 1H, C₉-Flavin), 7,02-7,79 (m, 21H, Phenylringe, C₇, C₈-Flavin), 8,16 (d, 1H, C₆), 11,48 (s, 1H, NH) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3442, 2963, 1709, 1660, 1552, 1250, 1199, 1175, 1046, 772, 697cm⁻¹;

FD-MS PI-FDMS 608,3(M^{•+}), 352,9(M-Ph₃C[•])⁺, 243,2(Ph₃C⁺)

5.2.2.5 N-10-[2-(2-Mercapto-ethoxy)-phenyl]-isoalloxazin (39)

Synthese analog Lit.^[32]



In ein Schlenckreagenzglas werden unter N₂-Atmosphäre 15,6mg (0,026mmol) N-10-[2-(2-Tritylsulfanyl-ethoxy)-phenyl]-isoalloxazin (**38**), 107mg (0,64mmol) Silberacetat und 20ml absolutes, N₂-gesättigtes Methanol vorgelegt. Der Ansatz wird unter Licht- und Sauerstoffausschluss 18h gerührt. Das LM wird abgezogen. Das Rohprodukt wird in 20ml MC aufgenommen. Die organische Phase wird mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert.

C₁₈H₁₄N₄O₃S 366,39

Ausbeute: 8mg (0,024 mmol, 91,8%), gelbgrünes Pulver

Schmp.: 253-255°C

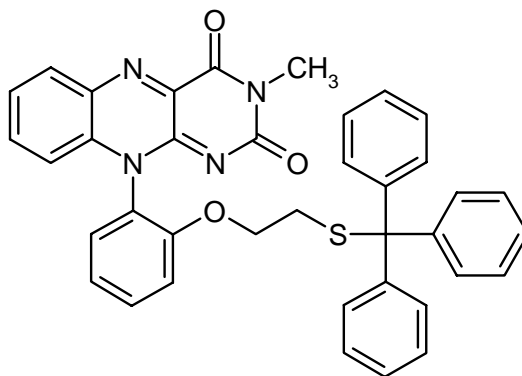
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ= 1,25 (s, 1H, -SH), 2,53 (m, 2H, -CH₂-S-, unter DMSO), 4,07 (m, 2H, -CH₂-O-), 6,82 (d, 1H, C₉-Flavin), 7,23-7,81 (m, 6H, Phenylring, C₇, C₈-Flavin), 8,20 (d, 1H, C₆-Flavin), 11,44 (s, 1H, NH) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3453, 2962, 1712, 1655, 1557, 1255, 1201, 1174, 1046, 771, 697cm⁻¹;

ESI-MS 367,0(MH⁺), 733,2(2M+H⁺)

5.2.2.6 N-3-Methyl-N-10-[2-(2-tritylsulfanyl-ethoxy)-phenyl]-isoalloxazin (**40**)

Synthese analog AV2



Ansatzgröße: 30mg (0,049mmol)

N-10-[2-(2-Tritylsulfanyl-ethoxy)-phenyl]-
isoalloxazin (**38**)

0,031ml (70mg, 0,493mmol)Methyljodid

68mg (0,493mmol) K₂CO₃

25ml DMF

C₃₈H₃₀N₄O₃S 622,75

Ausbeute: 31mg (0,049 mmol, 99%), grüngelbes Pulver

Schmp.: >300°C

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 2,27 (m, 2H, -CH₂-S-), 3,40 (s, 3H, NCH₃), 3,67

(m, 2H, -CH₂-O-), 6,86 (d, 1H, C₉-Flavin), 7,13-7,61 (m, 21H, Phenylringe, C₇, C₈-Flavin), 8,28 (d, 1H, C₆-Flavin) ppm;

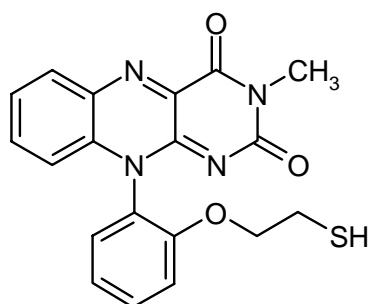
Enantiomerenbestimmung: Zugabe von S(+)-Anthrylalkohol in 4-facher molarer Menge: Aufspaltung des Signales der N(3)-CH₃-Gruppe im Verhältnis 1:1. (300 MHz, CDCl₃): δ= 3,08 (s, 3H, NCH₃), 3,12 (s, 3H, NCH₃) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3452, 2962, 1712, 1655, 1557, 1256, 1200, 1174, 1046, 772, 697 cm⁻¹;

FD-MS PI-FDMS 622,3(M^{•+}), 243,2(Ph₃C⁺)

5.2.2.7 N-10-[2-(2-Mercapto-ethoxy)-phenyl]-N-3-methylisoalloxazin (41)

Synthese nach Lit.^[32]



In ein Schlenckreagenzglas werden unter N₂-Atmosphäre 10mg (0,016mmol) N-3-Methyl-N-10-[2-(2-tritylsulfanyl-ethoxy)-phenyl]-isoalloxazin (**40**), 70mg (0,419mmol) Silberacetat und 5ml absolutes, N₂-gesättigtes Methanol vorgelegt. Der Ansatz wird unter Licht- und Sauerstoffausschluss 18h gerührt. Das LM wird abgezogen. Das Rohprodukt wird in 10ml MC aufgenommen. Die organische Phase wird mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert

C₁₉H₁₆N₄O₃S 380,41

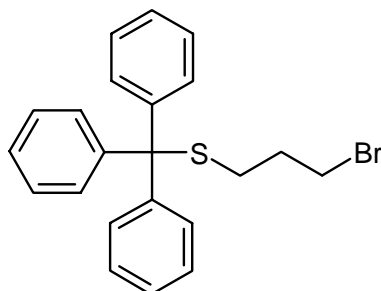
Ausbeute: 5mg (0,013mmol, 82%), gelbes Pulver

Schmp.: 138-142°C

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 1,90 (s, 1H, -SH, exchg.), 2,57 (m, 2H, -CH₂-S-), 3,51 (s, 3H, -NCH₃), 4,10 (m, 2H, -CH₂-O-), 6,93 (d, 1H, C₉-Flavin), 7,14-7,71 (m, 6H, Phenylring, C₇, C₈-Flavin), 8,35 (d, 1H, C₆-Flavin)ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3455, 2963, 1711, 1655, 1557, 1253, 1199, 1174, 1041, 771, 695 cm⁻¹;

EI-MS PI-EIMS 380(M^{•+}), 347(ΔSH[•]), 303,1(Δ-O[•]-CH₂-CH₂-SH)

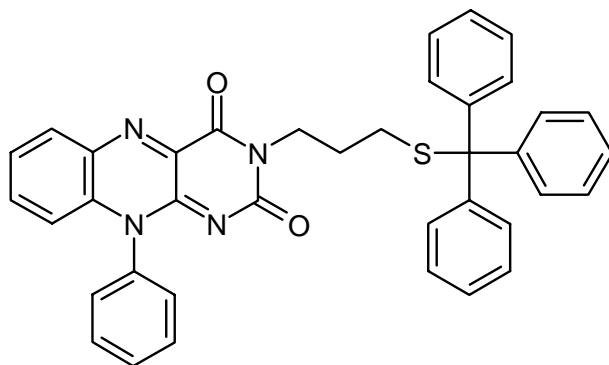
5.2.2.8 3-(Tritylthio)-1-brompropan (42)Synthese nach Lit.^[31]

In einen Schlenckkolben werden unter N₂-Atmosphäre 30ml abs. THF und 145mg (3,6mmol) 60%-iges NaH in Parafin vorgelegt. Der Ansatz wird auf 0°C abgekühlt. Anschließend wird 1g (3,6mmol) Triphenylmethylmercaptan portionsweise zugegeben. Nach der letzten Zugabe wird die entstandene Lösung 10min lang bei RT gerührt. Danach wird die Lösung erneut auf 0°C abgekühlt und 0,37ml (727mg, 3,6mmol) 1,3-Dibrompropan auf einmal zugegeben. Die Kühlung wird entfernt und der Ansatz 20min bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wird das LM abgezogen, das Rohprodukt in 20ml Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wird mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert.

C₂₂H₂₁BrS 397,39**Ausbeute:** 1,4g (3,523 mmol, 97,8%), weißes Pulver**Schmp.:** 98-102°C**¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ= 1,81 (m, 2H, -S-CH₂-CH₂-Br), 2,32 (t, 2H, -CH₂-S-), 3,52 (t, 2H, -CH₂-Br), 7,17-7,45(m, 15H, 3 Phenylringe) ppm;**IR (KBr)** $\bar{\nu}$ = 3438, 3058, 3027, 2919, 1593, 1488, 1442, 1254, 1183, 1080, 1034, 831, 755cm⁻¹;**FD-MS** PI-FDMS 398,1(M^{•+}), 243,1(Ph₃C⁺)

5.2.2.9 N-3-(3'-(Tritylthio)-1'-propyl)-N-10-phenylisoalloxazin (43)

Synthese analog AV2



| | | |
|--------------|-------------------|--|
| Ansatzgröße: | 34mg (0,117mmol) | N-10-Phenylisoalloxazin (3) |
| | 230mg (0,579mmol) | 3-(Tritylthio)-1-bromopropan (42) |
| | 162mg (1,171mmol) | K ₂ CO ₃ |
| | 20ml | DMF |

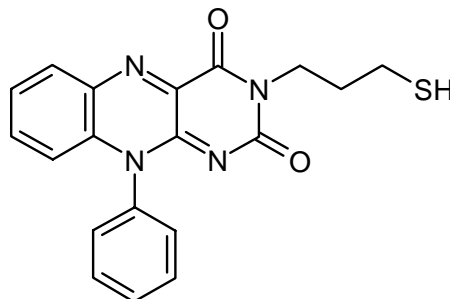
C₃₈H₃₀N₄O₂S 606,75**Ausbeute:** 25mg (0,041mmol, 35,2%), gelbes Pulver**Schmp.:** 241-245°C

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 1,70 (m, 2H, -S-CH₂-CH₂-Br), 2,21 (t, 2H, -CH₂-S-), 3,97 (t, 2H, -CH₂-N-), 6,88 (d, 1H, C₆-Flavin), 7,11-7,70 (m, 22H, 4 Phenylringe, C₇, C₈-Flavin), 8,34 (d, 1H, C₉-Flavin) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3450, 1711, 1654, 1554, 1490, 1269, 756cm⁻¹;

ESI-MS 607,2(MH⁺), 1213,8(2M+H⁺)

5.2.2.10 N-3-(1-Mercapto-3-propyl)-N-10-phenylisoalloxazin (44)

Synthese nach Lit.^[32]

In ein Schlenckreagenzglas werden unter N₂-Atmosphäre 15mg (0,025mmol) N-3-(3-(Tritylthio)-1-propyl)-N-10-Phenylisoalloxazin (**43**), 20,5mg (0,124mmol) Silberacetat und 10ml absolutes, N₂-gesättigtes Methanol vorgelegt. Der Ansatz wird unter Licht- und Sauerstoffausschluss 18h gerührt. Das LM wird abgezogen. Das Rohprodukt

wird in 10ml MC aufgenommen. Die organische Phase wird mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert.

C₁₉H₁₆N₄O₂S 364,42

Ausbeute: 8mg (0,022mmol, 92%), oranges Pulver

Schmp.: 166-170°C

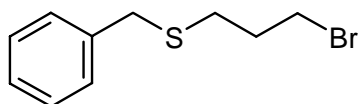
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 1,27 (s, 1H, SH), 2,13-2,19 (m, 2H, -CH₂-), 2,79 (t, 2H, -CH₂-S-), 4,19 (t, 2H, -CH₂-O-), 6,90 (d, 1H, C₉-Flavin), 7,31-7,69 (m, 7H, Phenyl, C₇, C₈-Flavin), 8,34 (d, 1H, C₆-Flavin) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3057, 2924, 1709, 1660, 1589, 1264cm⁻¹;

ESI-MS 365,3(MH⁺), 729,5(2M+H⁺)

5.2.2.11 1-Brom-3-benzylthioxypropan (45)

Synthese analog Lit.^[33]



In einen ausgeheizten Schlenckkolben werden unter N₂-Atmosphäre 2,38ml (2,5g, 20,127mmol) Benzylmercaptan und 30ml absolutes, N₂-gesättigtes THF vorgelegt. Der Ansatz wird auf -50°C abgekühlt. Dann erfolgt die Zugabe von 13,9ml (1,418g 100%, 22,14mmol) n-Butyllithium, wobei ein Farbumschlag von leicht gelb zu dunkelbraun zu beobachten ist. Nach der letzten Zugabe wird der Ansatz 30min bei RT gerührt. Der Ansatz wird erneut auf -50°C abgekühlt. Mit einer Kanüle wird eine Lösung von 4,12ml (8,12g, 40,24mmol) 1,3-Dibrompropan in 30ml absolutem, N₂-gesättigtem THF zugegeben. Die Reaktionsmischung wird 10h gerührt, wobei die Temperatur allmählich auf RT steigt. Die Reaktion wird beendet und das LM abgezogen. Das Rohprodukt wird in MC aufgenommen und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Das Produkt wird chromatographisch gereinigt. PE(40/60)/EE 2:1.

C₁₀H₁₃BrS 245,20

Ausbeute: 4,01 g (16,354 mmol, 81,2%), farbloses Öl

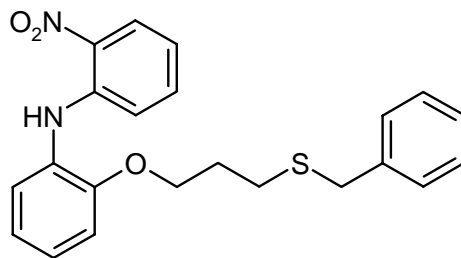
Siedep.: 105-107°C (0,3bar)

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 2,10 (m, 2H, -S-CH₂-CH₂-CH₂-Br), 2,60 (t, 2H, -CH₂-S-), 3,51 (t, 2H, -CH₂-Br), 3,75 (s, 2H, Phenyl-CH₂-S-), 7,25-7,39 (m, 5H, Phenylring) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3050, 3020cm⁻¹;

DCI-MS 246,0(M⁺), 164,1(ΔHBr), 91,1(C₇H₇⁺)

5.2.2.12 N-1-(2'-Nitrophenyl)-2-(3-benzylsulfanylpropoxy)-phenylamin (46)

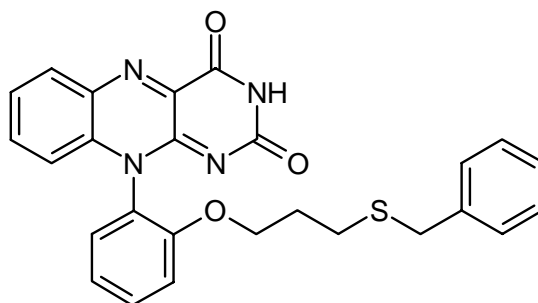
Synthese analog Lit.^[30]

In einen Rundkolben werden 2,4g (9,516mmol) Natrium N-(2'-nitro-1'-phenyl)-2-aminophenolat, 2,6g (10,603mmol) 1-Brom-3-benzylthioxypropan (**45**) und 45ml Ethanol vorgelegt. Der Ansatz wird unter Reflux 8h gerührt. Der Reaktionsverlauf wird mittels DC kontrolliert. Nach Beendigung der Reaktion wird das LM abrotiert, das Rohprodukt in MC aufgenommen. Die organische Phase wird mehrmals mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie PE(40/60)/MC 1:1.

C₂₂H₂₂N₂O₃S 394,50**Ausbeute:** 1,16g (2,94mmol, 27,7%), oranges Pulver**Schmp.:** 121-123°C**¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ= 2,00 (m, 2H, -S-CH₂-CH₂-O-), 2,57 (t, 2H, -CH₂-S-), 3,68 (s, 2H, Phenyl-CH₂-S-), 4,08 (t, 2H, -CH₂-O-), 6,74-7,40 (m, 5H, Phenylring), 8,21 (d, 1H, C_{3'}), 9,53 (s, 1H, NH) ppm;**IR (KBr)** $\bar{\nu}$ = 3322, 3079, 2985, 2804, 1625, 1589, 1430, 1351, 1270, 1232, 1147, 1073, 804, 506cm⁻¹;**EI-MS** PI-EIMS 395,2(MH⁺), 806,2(2M+H⁺)

5.2.2.13 N-10-(2'-(3'-benzylsulfanylpropoxy)-phenyl)-isoalloxazin (47)

Synthese analog AV1



Ansatzgröße: 0,5g (1,267mmol) N-1-(2'-Nitrophenyl)-2-(3-benzylsulfanylpropoxy)-phenylamin (46)

2,32g (35,488mmol) Zink

40 ml Essigsäure

0,245g (1,584mmol) Alloxan.Hydrat

0,212g (3,422mmol) H₃BO₃

30ml Essigsäure

C₂₀H₂₂N₄O₃S 470,55

Ausbeute: 415mg (0,882mmol, 69,9%), gelbgrünes Pulver

Schmp.: >300°C

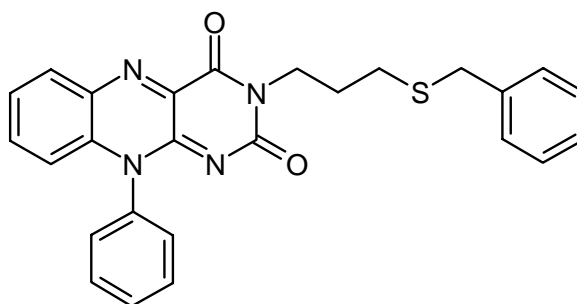
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 1,68 (m, 2H, -S-CH₂-CH₂-O-), 2,07 (m, 2H, -CH₂-S-), 3,49 (s, 2H, Phenyl-CH₂-S-), 4,02 (t, 2H, -CH₂-O-), 6,92 (d, 1H, C₉-Flavin), 7,11-7,72 (m, 11H, Phenylringe, C₇, C₈-Flavin), 8,33 (d, 1H, C₆-Flavin), 8,62 (s, 1H, NH) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3052, 2920 1710, 1665, 1589, 1270cm⁻¹;

EI-MS PI-EIMS 470(M^{•+})

5.2.2.14 N-10-Phenyl-N-3-(3'-benzylsulfanylpropyl)-isoalloxazin (48)

Synthese analog AV2



Ansatzgröße: 150mg (0,517mmol)

N-10-Phenylisoalloxazin (3)

| | |
|-------------------|---|
| 1,27g (5,167mmol) | 1-Brom-3-benzylthioxypropan (45) |
| 714mg (5,167mmol) | K ₂ CO ₃ |
| 30ml | DMF |

C₂₆H₂₂N₄O₂S 454,58

Ausbeute: 43mg (0,095mmol, 18,3%), gelbgrünes Pulver

Schmp.: 163-166°C

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ= 1,82 (m, 2H, -S-CH₂-CH₂-CH₂-O-), 2,44 (t, 2H, -CH₂-S-), 3,74 (s, 2H, Phenyl-CH₂-S-), 3,93 (t, 2H, -CH₂-O-), 6,80 (d, 1H, C₉-Flavin), 7,16-7,82 (m, 7H, Phenylring, C₇, C₈-Flavin), 8,24 (d, 1H, C₆-Flavin) ppm;

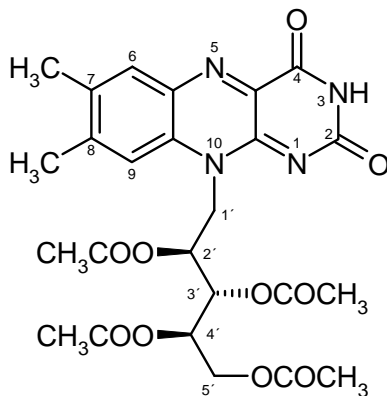
IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3493, 3173, 3052, 2822, 1719, 1671, 1616, 1586, 1551, 1497, 1461, 1396, 1271, 1194, 1113, 878, 748cm⁻¹;

EI-MS 456(MH⁺)

5.2.3 Flavindimere

5.2.3.1 2',3',4',5'-Tetraacetylriboflavin (**49**)

Synthese nach Lit.^[34]



In einen Rundkolben werden 2,5g (6,65mmol) Riboflavin in 200ml 1:1 Gemisch von Essigsäure und Essigsäureanhydrid suspendiert. Zum Ansatz wird tropfenweise 0,5ml 70% HClO₄ zugegeben. Anschließend wird das Reaktionsgemisch 30min bei 40°C gerührt. Nach Reaktionsende wird der Ansatz im Eisbad abgekühlt und mit 200ml kaltem Wasser versetzt. Das Produkt wird in insgesamt 400ml MC extrahiert. Die organische Phase wird zweimal mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert.

C₂₅H₂₈N₄O₁₀ 544,52

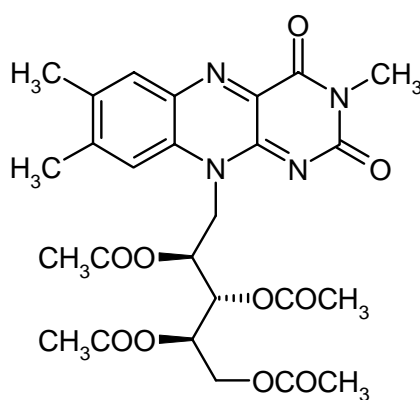
Ausbeute: 3,5g (6,428mmol, 96,6%), gelbes Pulver

Schmp.: 250-252°C

- ¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ= 1,76 (s, 3H, CH₃(2')COO-), 2,08 (s, 3H, CH₃(3')COO-), 2,21 (s, 3H, CH₃(4')COO-), 2,28 (s, 3H, CH₃(5')COO-), 2,45 (s, 3H, CH₃(7)), 2,57 (s, 3H, CH₃(8)), 4,21-4,46 (m, 2H, CH₂-(5')), 4,91 (br m, 2H, CH₂-(1')), 5,30-5,48 (m, 2H, CH (2')+CH (3')), 5,66 (m, 1H, CH-(4')), 7,56 (s, 1H, C₉-Flavin), 8,03 (s, 1H, C₆-Flavin), 8,47 (s, 1H, NH) ppm;
- IR (KBr)** $\bar{\nu}$ = 3852, 3759, 3380, 3063, 2979, 2922, 1723, 1586, 1533, 1458, 1270, 1190, 1094, 1025, 711cm⁻¹;
- ESI-MS** 545,3(MH⁺), 1089,5(2M+H⁺)

5.2.3.2 N-3-Methyl-2',3',4',5'-Tetraacetylriboflavin (50)

Synthese nach AV2



- Ansatzgröße: 500mg (0,918mmol) 2',3',4',5'-Tetraacetylriboflavin (**49**)
- 0,59ml (1,3g, 9,182mmol) Methyljodid
- 1,27g (9,182mmol) K₂CO₃
- 15ml DMF

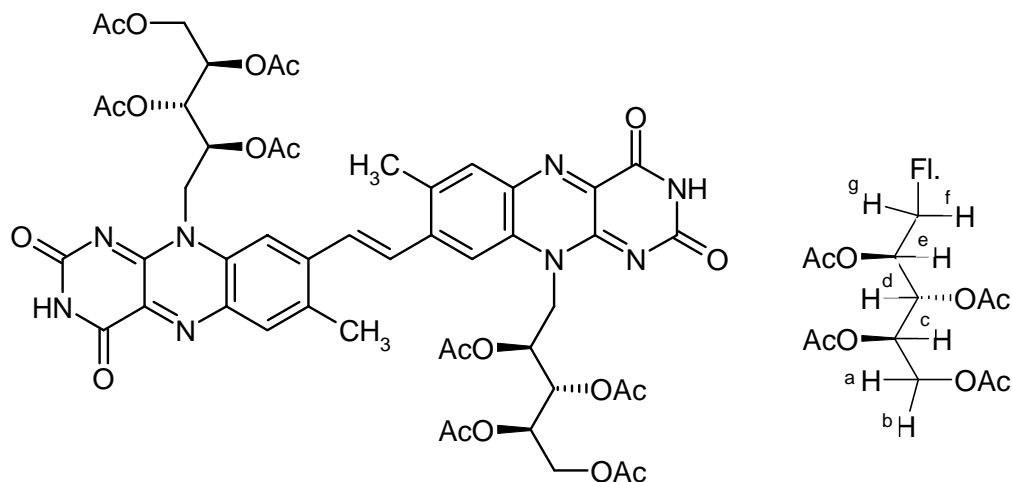
C₂₆H₃₀N₄O₁₀ 558,56

Ausbeute: 388mg (0,695mmol, 75,7%), gelbe Kristalle

Schmp.: >300°C

- ¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ= 1,76 (s, 3H, CH₃(2')COO-), 2,05 (s, 3H, CH₃(3')COO-), 2,18 (s, 3H, CH₃(4')COO-), 2,32 (s, 3H, CH₃(5')COO-), 2,44 (s, 3H, CH₃(7)), 2,58 (s, 3H, CH₃(8)), 3,51 (s, 3H, N-CH₃), 4,20-4,46 (m, 2H, CH₂-(5')), 4,92 (br m, 2H, CH₂-(1')), 5,30-5,48 (m, 2H, CH (2')+CH (3')), 5,67 (m, 1H, CH-(4')), 7,56 (s, 1H, C₉-Flavin), 8,02 (s, 1H, C₆-Flavin) ppm;
- IR (KBr)** $\bar{\nu}$ = 3853, 3758, 3446, 3062, 2972, 2925, 1720, 1581, 1534, 1458, 1262, 1188, 1095, 1022, 710cm⁻¹;
- ESI-MS** 559,4(MH⁺), 1118(2M+H⁺)

Synthese nach Lit.^[35] und nach AV6



| | |
|--------------------------------|---|
| Ansatzgröße: 150mg (0,275mmol) | 2',3',4',5'-Tetraacetylriboflavin (49) |
| 896mg (2,754mmol) | Cs ₂ CO ₃ |
| 140mg (0,551mmol) | I ₂ |
| 20ml | abs. 1,4-Dioxan |

Ausbeute: 90mg (0,083mmol, 60%), rotes Pulver

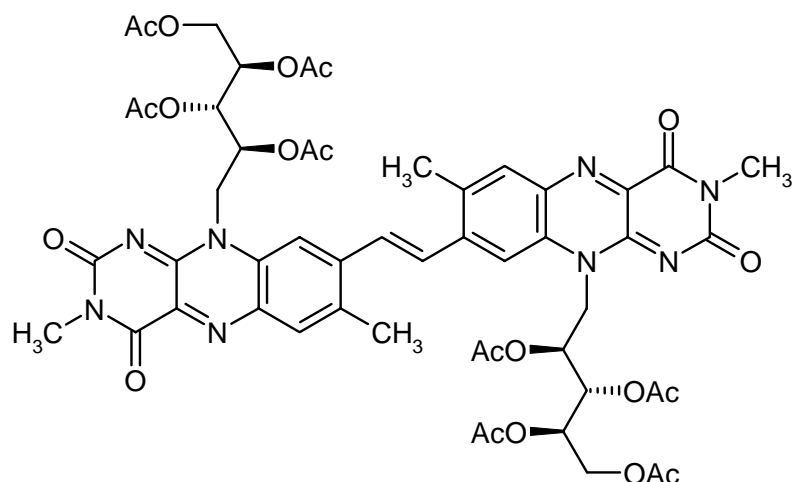
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 1,63 (s, 3H, CH₃(2')COO-), 1,98 (s, 3H, CH₃(3')COO-), 2,05 (s, 3H, CH₃(4')COO-), 2,18 (s, 3H, CH₃(5')COO-), 2,64 (s, 3H, CH₃(7)), 4,24 (m, 1H, H_a, J_{a-b}= 12,2Hz, J_{a-c}= 6,3Hz, CH₂-(5')), 4,39 (m, 1H, H_b, J_{b-a}= 12,2Hz, J_{b-c}= 3,63Hz, CH₂-(5')), 4,99 (m, 1H, H_g, J_{g-f}= 14,5Hz, J_{g-e}= 3,7Hz, CH₂-(1')), 5,24 (m, 1H, H_f, J_{f-g}= 14,5Hz, J_{f-e}= 9,1Hz, CH₂-(1')), 5,33 (m, 1H, H_c, J_{c-a}= 6,3Hz, J_{c-d}= 5,7Hz, J_{c-b}= 3,6Hz, CH-(4')), 5,48 (m, 1H, H_d, J_{d-c}= 5,7Hz, J_{d-e}= 4,4Hz, CH (3')), 5,52 (m, 1H, H_e, J_{e-f}= 9,1Hz, J_{e-d}= 4,4Hz, J_{e-g}= 3,6Hz, CH (2')), 7,87 (s, 1H, C(8)CH_{olef}), 8,04 (s, 1H, C₆-Flavin), 8,21 (s, 1H, C₉-Flavin), 11,47 (s br, 1H, NH) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3461, 3211, 2948, 1746, 1576, 1540, 1372, 1224, 1051 cm⁻¹;

ESI-MS 1085,4(MH⁺), 543,4(M+2H⁺)²⁺

5.2.3.4 TARf-Me-Dimer (52)

Synthese nach AV2



Ansatzgröße: 100mg (0,092mmol) TARf-NH-Dimer (**51**)
 0,06ml (131mg, 0,922mmol) Methyljodid
 127mg (0,922mmol) K_2CO_3
 10ml DMF

 $C_{52}H_{56}N_8O_{20}$ 1113,06

Ausbeute: 93mg (0,084mmol, 91%), rotes Pulver

Schmp.: >300°C

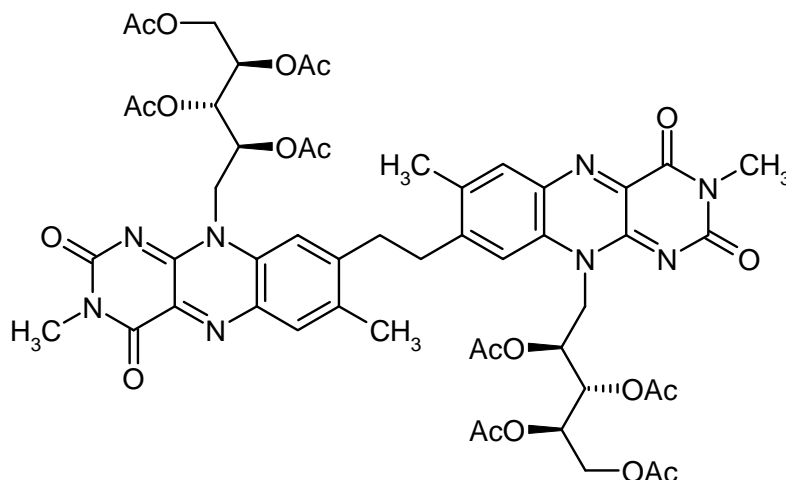
 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ = 1,85 (s, 3H, $CH_3(2')COO^-$), 2,04 (s, 3H, $CH_3(3')COO^-$), 2,08 (s, 3H, $CH_3(4')COO^-$), 2,23 (s, 3H, $CH_3(5')COO^-$), 2,66 (s, 3H, $CH_3(7)$), 3,51 (s, 3H, NCH_3), 4,23 (m, 1H, H_a , $CH_2-(5')$), 4,44 (m, 1H, H_b , $CH_2-(5')$), 5,06 (br m, 2H, H_g , H_f , $CH_2-(1')$), 5,42 (m, 2H, H_c , $CH-(4')$ + H_d , $CH(3')$), 5,67 (m, 1H, H_e , $CH(2')$), 7,74 (s, 1H, $C(8)CH_{olef.}$), 7,99 (s, 1H, C_9 -Flavin), 8,16 (s, 1H, C_6 -Flavin) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3448, 1750, 1655, 1580, 1544, 1372, 1229, 1041 cm^{-1} ;

ESI-MS 1113,4(MH^+), 557,5($M+2H^+$) $^{2+}$

5.2.3.5 TARf-Me-CH₂-Dimer (53)

Synthese nach Lit.^[35]



Entsteht als Nebenprodukt (N(3)H bzw. N(3')H) bei Synthese von **51**. Aufgrund der Verunreinigung durch **51** wird die Trennung erst nach der Methylierung von **51** zu **52** durchgeführt.

C₅₂H₅₈N₈O₂₀ 1115,1

Ausbeute: 100mg (0,09mmol), gelbes Pulver

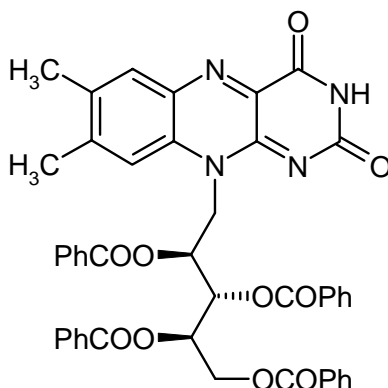
Schmp.: >300°C

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ= 1,80 (s, 3H, CH₃(2')COO-), 2,05 (s, 3H, CH₃(3')COO-), 2,13 (s, 3H, CH₃(4')COO-), 2,27 (s, 3H, CH₃(5')COO-), 2,55 (s, 3H, CH₃-(7)), 3,26 (m, 2H, C(8)CH₂-), 3,51 (s, 3H, N-CH₃), 4,16-4,48 (m, 2H, CH₂-(5')), 4,72-5,30 (m, 2H, CH₂-(1'), Austausch), 5,38 (m, 2H, CH-(4')+CH-(3')), 6,63 (m, 1H, CH-(2')), 7,62 (s, 1H, C₆-Flavin), 8,12 (s, 1H, C₉-Flavin) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3461, 1750, 1656, 1587, 1546, 1377, 1226, 1056cm⁻¹;

ESI-MS 1115,7(MH⁺), 558,4(MH₂²⁺)

5.2.3.6 2',3',4',5'-Tetrabenzoylriboflavin (54)

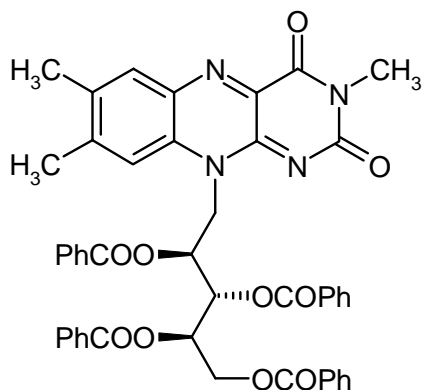
Synthese nach Lit.^[36]

In einen Rundkolben werden unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluss 3,76g (10mmol) Riboflavin in 20ml Pyridin suspendiert. Zum Ansatz werden 122mg (1mmol) 4-N,N-Dimethylaminopyridin auf einmal und 9,05g (40mmol) Benzoesäureanhydrid in 20ml Pyridin innerhalb 30min zugegeben. Die Reaktionsmischung wird bei RT 30h gerührt. Nach dieser Zeit entsteht eine homogene Lösung, zu der 5g Eis zugegeben wird. Das LM wird bei 40°C abgezogen. Der Rückstand wird in 50ml MC aufgenommen. Die organische Phase wird zweimal mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert.

C₄₅H₃₆N₄O₁₀ 792,80**Ausbeute:** 6,01g (7,576mmol, 75,7%), gelbe Kristalle**Schmp.:** >300°C**¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ = 2,23 (s, 6H, CH₃-(7), CH₃-(8)), 4,58-4,97 (m, 2H, CH₂-(5')), 5,63 (m, 2H, CH₂-(1')), 6,05 (m, 1H, CH-(4')), 6,18-6,27 (m, 2H, CH (2')+CH (3')), 7,32-8,21 (m, 22H, C₆-Flavin, C₉-Flavin, 4x Phenyl), 8,53 (s, 1H, NH-Flavin) ppm;**IR (KBr)** $\bar{\nu}$ = 3856, 3751, 3446, 3061, 2971, 2925, 1721, 1579, 1540, 1455, 1262, 1181, 1096, 1019, 709cm⁻¹;**ESI-MS** 793,3(MH⁺), 1586,9(2M+H⁺)

5.2.3.7 N-3-Methyl-2',3',4',5'-tetrabenzoylriboflavin (55)

Synthese nach AV2

Ansatzgröße: 100mg (0,126mmol) 2',3',4',5'-Tetrabenzoylriboflavin (**54**)

0,08ml (0,179g, 1,26mmol) Methyljodid

174mg (1,26mmol) K₂CO₃

15ml DMF

C₄₆H₃₈N₄O₁₀ 806,83**Ausbeute:** 77g (0,095mmol, 75,7%), gelbe Kristalle**Schmp.:** >300°C

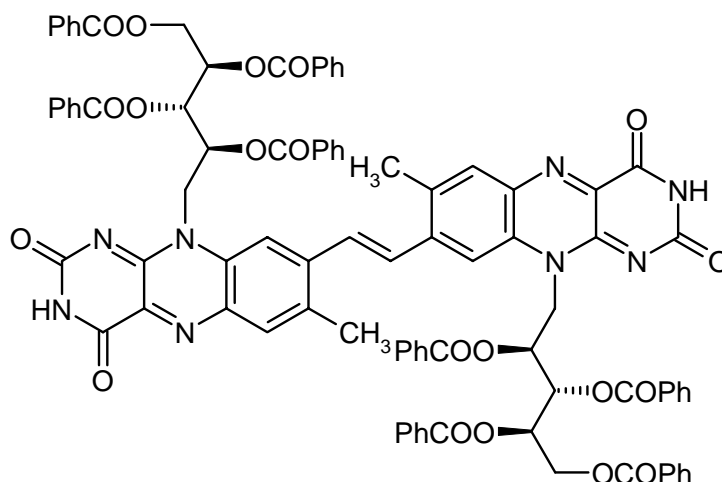
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 2,44 (s, 6H, CH₃-(7), CH₃-(8)), 3,41 (s, 3H, N(3)-CH₃), 4,55-4,98 (m, 2H, CH₂-(5')), 5,66 (br m, 2H, CH₂-(1')), 6,01 (m, 1H, CH-(4')), 6,15-6,28 (m, 2H, CH (2')+CH (3')), 7,30-8,17 (m, 22H, C₆-Flavin, C₉-Flavin, 4x Phenyl) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3853, 3752, 3445, 3060, 2971, 2925, 1721, 1578, 1540, 1456, 1263, 1181, 1095, 1019, 710cm⁻¹;

ESI-MS 807,4(MH⁺), 1615,0(2M+H⁺), 805,2(M-H⁺)⁻

5.2.3.8 (Tetrabenzoylriboflavindimer) TBRf-NH-Dimer (56)

Synthese nach Lit.^[35] und nach AV6



Ansatzgröße: 400mg (0,505mmol) 2',3',4',5'-Tetrabenzoylriboflavin (**54**)
 1,78g (5,045mmol) Cs₂CO₃
 256mg (1,009mmol) I₂
 25ml abs. 1,4-Dioxan

C₉₀H₆₈N₈O₂₀ 1581,9 g/mol

Ausbeute: 235mg (0,298mmol, 59%), rotes Pulver

Schmp.: 290°C

¹H-NMR (400 MHz, DMF-d₆) δ = 2,32 (s, 3H, CH₃-(7)), 4,9-5,1 (m, 2H, CH₂-(5')), 5,5-5,85 (m, 2H, CH₂-(1')), 6,21 (m, 1H, CH-(4')), 6,42 (m, 2H, CH (2')+CH (3')), 7,31-8,19 (m, 42H, C₆-Flavin, CH-(8), 8x Phenyl), 8,43 (s, 1H, C₉-Flavin), 11,48 (s, 1H, NH-Flavin) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3856, 3751, 3446, 3061, 2971, 2925, 1721, 1579, 1540, 1455, 1262, 1181, 1096, 1019, 709cm⁻¹;

ESI-MS 1582,9 (MH⁺), 792 (MH₂²⁺)

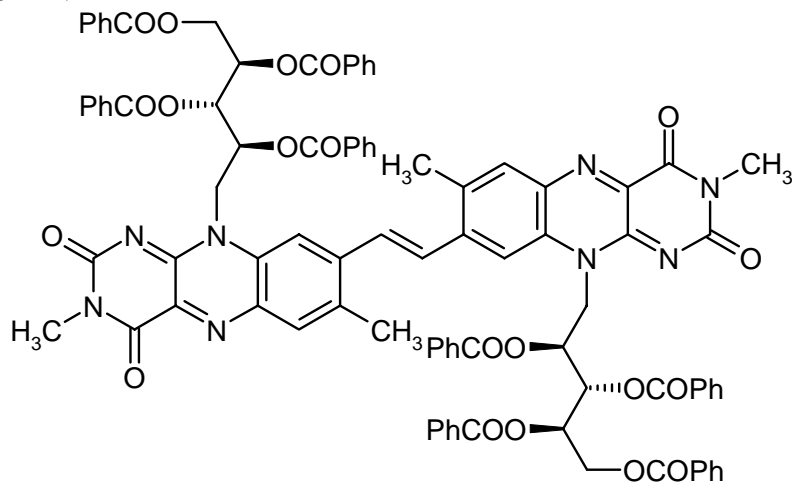
Elementaranalyse: (Umkristallisiert aus Ethanol) → **56** + 3xEtOH

ber. : C 67,05; H 5,04; N 6,52; O 21,40;

gef.: C 67,19; H 5,06; N 6,23.

5.2.3.9 TBRf-Me-Dimer (57)

Synthese nach AV2



Ansatzgröße: 150mg (0,095mmol)

TBRf-NH-Dimer (56)

0,06ml (135mg, 0,948mmol) Methyljodid

131mg (0,948mmol) K_2CO_3

20ml

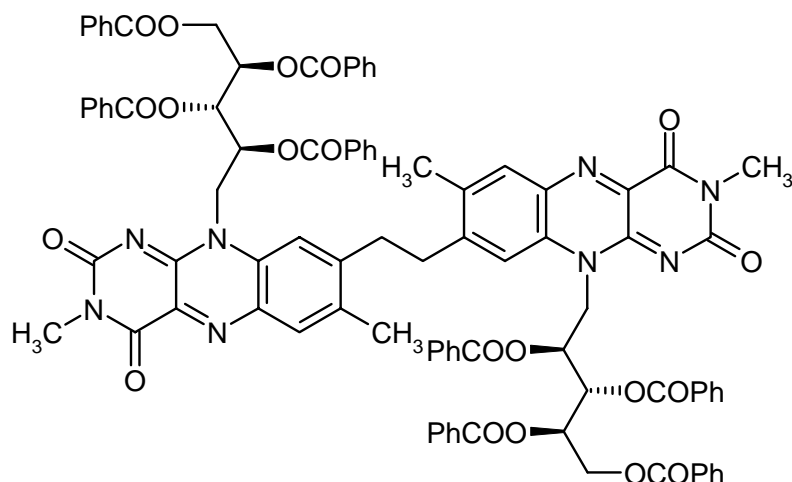
DMF

 $C_{92}H_{72}N_8O_{20}$ 1609,62**Ausbeute:** 137mg (0,085mmol, 90%), gelbes Pulver**Schmp.:** $>300^\circ C$

1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ = 2,48 (s, 3H, CH_3 -(7)), 3,39 (s, 3H, N- CH_3), 4,56-4,89 (m, 2H, CH_2 -(5')), 5,5-5,85 (m, 2H, CH_2 -(1'), Austausch), 6,01 (m, 1H, CH-(4')), 6,20 (m, 2H, CH (2')+CH (3')), 7,31-8,00 (m, 40H, 8x Phenyl), 7,78 (s, 1H, CH-(8)), 8,01 (s, 1H, C₆-Flavin) 8,35 (s, 1H, C₉-Flavin) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3856, 3751, 3442, 3065, 2964, 2925, 1722, 1667, 1587, 1452, 1262, 1178, 1101, 1024, 979, 815, 712 cm^{-1} ;

ESI-MS 1610,7 (MH^+), 805,4 (MH_2^{2+})

5.2.3.10 TBRf-Me-CH₂-Dimer (58)Synthese nach Lit.^[35]

Entsteht als Nebenprodukt (N(3)H bzw. N(3')H) bei Synthese von **56**. Aufgrund der Verunreinigung durch **56** wird die Trennung erst nach der Methylierung von **56** zu **57** durchgeführt.

C₉₂H₇₄N₈O₂₀ 1611,64**Ausbeute:** 120mg (0,074mmol), gelbes Pulver**Schmp.:** >300°C

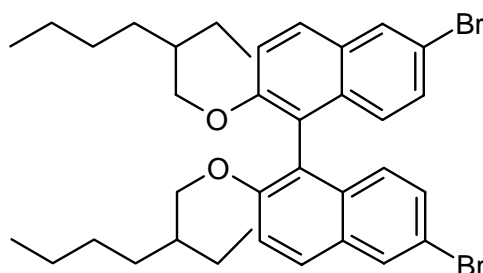
¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ = 2,35 (s, 3H, CH₃-(7)), 2,98 (m, 2H, C(8)CH₂-), 3,37 (s, 3H, N-CH₃), 4,44-4,90 (m, 2H, CH₂-(5')), 5,5-5,85 (m, 2H, CH₂-(1'), Austausch), 5,94 (m, 1H, CH-(4')), 6,03-6,16 (m, 2H, CH (2')+CH (3')), 7,27-8,03 (m, 42H, C₆-Flavin, C₉-Flavin, 8x Phenyl) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3856, 3752, 3449, 3069, 2960, 1730, 1667, 1581, 1546, 1446, 1260, 1173, 1098, 1014, 968, 798, 710 cm⁻¹;

ESI-MS 1612,7 (MH⁺), 806,5 (MH₂²⁺)

5.2.4 Rezeptoren

5.2.4.1 S-6,6'-Dibrom-2,2'-di(2-ethylhexoxy)-1,1'-binaphtyl (59)

Synthese nach Lit.^[24] und nach AV5

Ansatzgröße: 2,713g (6,109mmol) S-6,6'-Dibrom-1,1'-bi-2-naphthol (99% ee)
(S-25)

1,466g (61,087mmol) NaH
10,8ml (11,8g, 61,087mmol) 2-Ethylhexylbromid
50ml DMF

$C_{36}H_{44}Br_2O_2$ 668,56

Ausbeute: 2,015g (3,014mmol, 49,3%), gelbes Öl

Schmp.: -°C

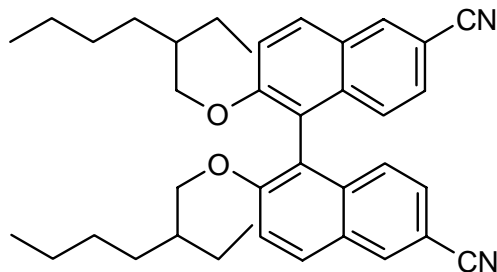
1H -NMR (250 MHz, $CDCl_3$): δ = 0,5-1,4 (m, 30H, Alkylreste), 3,79 (m, 4H, -OCH₂, -OCH₂'), 7,02 (m, 2H, H⁸ u. H^{8'}), 7,26 (dd, 2H, J₇₋₈= 9,1 Hz, J₇₋₅= 2,0 Hz, H⁷ u. H^{7'}), 7,39 (d, 2H, J₃₋₄= 9,1 Hz, H³ u. H^{3'}), 7,83 (d, 2H, J₄₋₃= 9,1 Hz, H⁴ u. H^{4'}), 8,00 (d, 2H, J₅₋₇= 2,0 Hz, H⁵ u. H^{5'}) ppm;

IR (Film) $\bar{\nu}$ = 3062, 2960, 2928, 1616, 1586, 1496, 1464, 1333, 1270, 1069, 1045, 876, 812cm⁻¹;

EI-MS 668(M⁺)

5.2.4.2 S-6,6'-Dicyano-2,2'-di(2-ethylhexoxy)-1,1'-binaphtyl (60)

Synthese analog Lit.^[37]



In einen Kolben werden 0,923g (1,38mmol) S-6,6'-Dibrom-2,2'-di(2-ethylhexoxy)-1,1'-binaphtyl (**59**), 0,38g (4,243mmol) CuCN und 25ml N-Methylpyrrolidon vorgelegt. Die Reaktionsmischung wird 5h refluxiert. Die entstandene braune Lösung wird mit konzentrierter Lösung von FeCl₃ in 35ml Wasser versetzt und über Nacht gerührt. Danach werden 180ml 12% HCl zugegeben und viermal mit jeweils 150ml Toluol extrahiert. Die organische Phase wird zweimal mit 12% HCl und zweimal mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Das braune ölige Rohprodukt wird anschließend chromatographiert (MC).

$C_{38}H_{44}N_2O_2$ 560,82

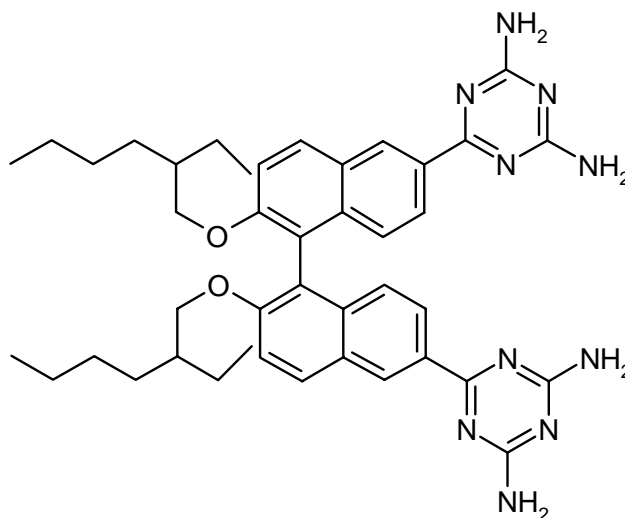
Ausbeute: 0,7g (1,248mmol, 90,4%), zähes farbloses Öl

Schmp.: -°C

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 0,55-1,02 (m, 28H, Alkylreste), 1,31 (m, 2H, CH, CH'), 3,86 (m, 4H, -OCH₂, -OCH₂'), 7,16 (m, 2H, H⁸ u. H^{8'}), 7,33 (dd, 2H, H⁷ u. H^{7'}), 7,49 (d, 2H, H³ u. H^{3'}), 8,01 (d, 2H, H⁴ u. H^{4'}), 8,25 (d, 2H, H⁵ u. H^{5'}) ppm;
IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 2226cm⁻¹;
EI-MS PI-EIMS 560,4(M⁺)

5.2.4.3 S-6,6'-Di(2,4-diamino-1,3,5-triazin-6-yl)-2,2'-di(2-ethylhexoxy)-1,1'-binaphtyl (61)

Synthese analog Lit.^[38]



In einen Kolben werden 168mg (3mmol) KOH, 700mg (1,248mmol) S-6,6'-Dicyano-2,2'-di(2-ethylhexoxy)-1,1'-binaphtyl (**60**), 257mg (3mmol) Dicyandiamid und 15ml Monomethylglycol vorgelegt. Die Reaktionslösung wird 24 h bei 140 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wird der ausgefallene Niederschlag in heißem Wasser suspendiert, filtriert und getrocknet.

C₄₂H₅₂N₁₀O₂ 728,94

Ausbeute: 545mg (0,749mmol, 60%), gelbliches Pulver

Schmp.: >300°C

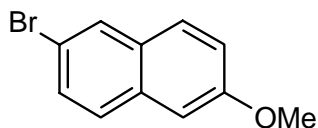
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ= 0,50-0,95 (m, 28H, Alkylreste), 1,24 (m, 2H, CH, CH'), 3,85 (m, 4H, -OCH₂, -OCH₂'), 6,77 (br s, 8H, 4x -NH₂), 7,10 (m, 2H, H⁸ u. H^{8'}), 7,59 (dd, 2H, H⁷ u. H^{7'}), 8,12 (m, 4H, H³ u. H^{3'}, H⁴ u. H^{4'}), 8,88 (d, 2H, H⁵ u. H^{5'}) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3491, 3414, 3330, 3197, 2938, 2927, 1622, 1553, 1486, 1398, 1342, 1269, 1244, 1153, 1041, 820cm⁻¹;

ESI-MS 729,5(MH⁺), 365,3(M+2H⁺)²⁺

5.2.4.4 6-Brom-2-methoxynaphtalin (62)

Synthese nach Lit.^[24] und nach AV5



Ansatzgröße: 372mg (1,667mmol) 6-Brom-2-naphthol

200mg (8,335mmol) NaH

0,53ml (1,18g, 8,335mmol) Methyljodid

20ml DMF

C₁₁H₉BrO 237,10

Ausbeute: 229mg (0,967mmol, 58%), weisses Pulver

Schmp.: 105-107°C

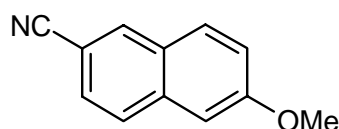
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 3,89 (s, 3H, -OCH₃), 7,06 (d, 1H, H³), 7,15 (dd, 1H, H¹), 7,47 (dd, 1H, H⁷), 7,59 (m, 2H, H⁴, H⁸), 7,89 (d, 1H, H⁵) ppm;

IR (Film) $\bar{\nu}$ = 3009, 2965, 1632, 1626, 1596, 1576, 1460, 1449, 1358, 1330, 1123, 726cm⁻¹

EI-MS 237(M⁺)

5.2.4.5 6-Cyano-2-methoxynaphtalin (63)

Synthese analog Lit.^[37]



In einen Kolben werden 229mg (0,967mmol) 6-Brom-2-methoxynaphtalin (**62**), 259mg (2,9mmol) CuCN und 15ml N-Methylpyrrolidon vorgelegt. Die Reaktionsmischung wird 5h refluxiert. Die entstandene braune Lösung wird mit konzentrierter Lösung von FeCl₃ in 25ml Wasser versetzt und über Nacht gerührt. Danach werden 120ml 12% HCl zugegeben und viermal mit jeweils 100ml Toluol extrahiert. Die organische Phase wird zweimal mit 12% HCl und zweimal mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Das braune ölige Rohprodukt wird anschließend chromatographiert (MC).

C₁₂H₉NO 183,21

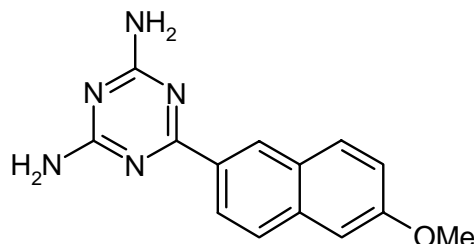
Ausbeute: 76mg (0,416mmol, 43%), weisses Pulver

Schmp.: 103°C

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ= 3,95 (s, 3H, -OCH₃), 7,15 (d, 1H, H³), 7,24 (d.d, 1H, H¹), 7,56 (d, 1H, H⁷), 7,76-7,79 (m, 2H, H⁴, H⁸), 8,13 (d.d, 1H, H⁵) ppm;
IR (Film) $\bar{\nu}$ = 2226cm⁻¹
EI-MS PI-EIMS 183,1(M^{•+}), 168,1(ΔCH₃[•]), 140,3(ΔCO), 113,2(ΔHCN)

5.2.4.6 6-(2,4-diamino-1,3,5-triazin-6-yl)-2-methoxynaphtalin (64)

Synthese analog Lit.^[38]



In einen Kolben werden 96mg (1,7mmol) KOH, 65mg (0,355mmol) (1,248mmol) 6-Cyano-2-methoxynaphtalin (**63**), 152mg (1,7mmol) Dicyandiamid und 10ml Monomethylglycol vorgelegt. Die Reaktionslösung wird 24 h bei 140°C gerührt. Nach dem Abkühlen wird der ausgefallene Niederschlag in heißem Wasser suspendiert, filtriert und getrocknet.

C₁₄H₁₃N₅O 267,27

Ausbeute: 59mg (4,29 mmol, 62%), weißes Pulver

Schmp.: >300°C

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ= 3,89 (s, 3H, -OCH₃), 6,76 (br s, 4H, 2x -NH₂), 7,20 (d, 1H, H³), 7,37 (d.d, 1H, H¹), 7,85-7,98 (m, 2H, H⁴, H⁸), 8,31 (d, 1H, H⁷), 8,74 (d.d, 1H, H⁵) ppm;

IR (KBr) $\bar{\nu}$ = 3435, 3312, 3221, 3148, 1661, 1553, 1458, 1383, 1256, 901, 811, 716 cm⁻¹

EI-MS PI-EIMS 267,1(M^{•+}), 266,1(ΔH[•]), 224,1(ΔH₂N-CN)

Literaturverzeichnis

- [1] Autorenkollektiv, *Organikum*, 17. Auflage ed., VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, **1988**.
- [2] S. Hünig, G. Märkl, J. Sauer, *Einführung in die apparativen und spektroskopischen Methoden in der Organischen Chemie*, Regensburg, Würzburg, **1990**.
- [3] J. Salbeck, Diss. thesis, Universität Regensburg (Regensburg), **1988**.
- [4] J. Salbeck, *J. Electroanal. Chem.* **1993**, 340, 169.
- [5] J. Salbeck, *Anal. Chem.* **1993**, 65, 2169.
- [6] S. Hien, Diss. thesis, Universität Regensburg (Regensburg), **1995**.
- [7] P. Kirsch, A. Schönleben-Janass, R. H. Schirmer, *Liebigs Ann.* **1995**, 1275.
- [8] R. Engl, Diss. thesis, Universität Regensburg (Regensburg), **1999**.

- [9] E. F. Corsico, R. A. Rossi, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 3311.
- [10] J. Strauss, Diss. thesis, Univ. Regensburg (Regensburg), **2002**.
- [11] G. Beer, Diss. thesis, Universität Regensburg (Regensburg), **2001**.
- [12] P. Hemmerich, H. Erlenmeyer, B. Prijs, *Helv. Chim. Acta* **1959**, 233, 2164.
- [13] D. Gani, T. R. G. Edwards, *Tetrahedron* **1990**, 46, 935.
- [14] K. Kelnhofer, Diss. thesis, Universität Regensburg (Regensburg), **1997**.
- [15] S. Ebdrup, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1998**, 1147.
- [16] C. S. Kramer, K. Zeitler, T. J. J. Muller, *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 8619.
- [17] W. Chen, *Ind. J. Chem.* **1996**, 35B, 1085.
- [18] T. Kimachi, K. Tanaka, F. Yoneda, *J. Het. Chem.* **1991**, 28, 439.
- [19] H. Brederick, A. Bräuninger, D. Hayer, H. Vollmann, *Chem. Ber.* **1959**, 92, 2937.
- [20] J. Davoll, D. D. Evans, *J. Chem. Soc.* **1960**, 5041.
- [21] R. Yanada, Y. Yoneda, M. Yazaki, N. Mimura, T. Taga, F. Yoneda, K. Yanada, *Tetrahedron Asymm.* **1997**, 8, 2319.
- [22] B. R. Baker, W. Rzeszutarski, *J. Med. Chem.* **1968**, 11, 639.
- [23] T. Nagamatsu, Y. Hashiguchi, F. Yoneda, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1984**, 561.
- [24] G. Beer, Dipl. thesis, Universität Regensburg (Regensburg), **1999**.
- [25] T. Cai, D. L. Hughes, T. R. Verhoeven, P. J. Reider, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 7991.
- [26] T. Hamada, T. Fukuda, H. Imanishi, T. Katsuki, *Tetrahedron* **1996**, 52, 515.
- [27] M. Fujita, H. Oka, K. Ogura, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 5427.
- [28] A. B. Khare, R. B. Langason, S. M. Parsons, R. H. Mach, S. M. N. Efange, *Nucl. Med. Biol.* **1999**, 26, 609.
- [29] J. L. Wright, T. F. Gregory, S. R. Kesten, P. A. Boxer, K. A. Serpa, L. T. Meltzer, L. D. Wise, S. A. Espitia, C. S. Konkoy, E. R. Whittemore, R. M. Woodward, *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 3408.
- [30] B. Raguse, D. D. Ridley, *Aust. J. Chem.* **1984**, 37, 2059.
- [31] T. G. M. Dhar, L. A. Borden, S. Tyagarajan, K. E. Smith, T. A. Brancheck, R. L. Weinshank, C. Gluchowski, *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 2334.
- [32] G. P. F. van Strijdonck, J. A. E. H. van Haare, P. J. M. Hoenen, R. C. G. M. van den Schoor, M. C. Feiters, J. G. M. van der Linden, J. J. Steggerda, R. J. M. Nolte, *J. Chem. Soc., Dalton Transactions* **1997**, 449.
- [33] J. Almena, F. Foubelo, M. Yus, *Tetrahedron* **1995**, 51, 11883.
- [34] D. B. McCormick, *J. Het. Chem.* **1970**, 7, 447.
- [35] W. H. Rastetter, J. W. Frost, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 7157.
- [36] L. B. Wingard Jr., K. Narasimhan, *J. Mol. Catal.* **1986**, 34, 253.
- [37] H.-J. Deussen, C. Boutton, N. Thorup, T. Geisler, E. Hendrickx, K. Bechgaard, A. Persoons, T. Bjornholm, *Chem. Eur. J.* **1998**, 4, 240.
- [38] R. Deans, G. Cooke, V. M. Rotello, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 836.

6 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wird die Synthese und Charakterisierung von neuen Flavinderivaten - Cryptochrom- und Phototropinmodellsystemen und Flavindimeren vorgestellt.

6.1 Cryptochrommodellsysteme

Die Multichromophorsysteme **12**, **13** und **17** sollen einen Einblick in die lichtabhängigen Prozesse verschaffen, die in den natürlichen Cryptochromen verlaufen. Als Bausteine für die Darstellung der Cryptochrommodellsysteme wurden Pyren-, Phenothiazin- und Flavinderivate synthetisiert. Durch geeignete Verknüpfungsreaktionen gelang es Multichromophorsysteme **12**, **13** und **17** aufzubauen. Jedes Konjugat wurde elektrochemisch und spektroelektrochemisch charakterisiert. Diese Untersuchungen zeigen, dass zwischen den Konjugatenbausteinen keine oder sehr schwache Wechselwirkungen im Grundzustand stattfinden. Die Absorptionsspektroskopie bestätigt diese Vermutung, denn die Absorptionsspektren sind die Superposition der Spektren der Konjugatenbausteine. Schließlich wurde mittels Fluoreszenzspektroskopie festgestellt, dass bei allen Systemen die photophysikalischen Prozesse wie Energie- oder Elektronentransfer analog zu den biologischen Systemen auftreten. Es zeigte sich, dass ein Elektronentransferprozess innerhalb der Diade **12** von Phenothiazin zu Flavin stattfindet. Diese Feststellung ist sehr wichtig für die weitere Nachahmung der komplexen Prozesse im Cryptochrom, denn das Flavin ist dann fähig das überschüssige Elektron an einen weiteren Reaktionspartner abzugeben. In der Diade **13** konnte der Energietransferprozess von Pyren zu Flavin nachgewiesen werden. Die Anregung des Pyrenbausteins zeigt eine schwache Flavinfluoreszenz. Das Verhalten der Triade **17** basiert auf den Prozessen, die innerhalb der Diaden **12** und **13** verlaufen. Wie im Falle von **13** ist auch hier die Pyrenfluoreszenz stark gequencht und eine sehr schwache Emission im Bereich von 425 bis 650nm vorhanden. Die zeitaufgelösten Untersuchungen von **6**, **8**, **11** und der Diaden **12** und **13**, wie auch der Triade **17** zeigen, dass die Fluoreszenzlebensdauer und Quantenausbeute der Konjugate sich stark von den Daten der Konjugatenbausteine unterscheiden. Weiter wurde festgestellt, dass nach der Bestrahlung der Diade **12** und der Triade **17** ein Photoprodukt entsteht. Dieses Photoprodukt rührt vom Phenothiazinbaustein her, das mit seiner Fluoreszenzkinetik die

Kinetikmessungen der Konjugate überdeckt. Der Energietransfer in **17** verläuft nach dem Schema Antenne→Charge-Transfersystem. Die Auswertung der Prozesse in **17** scheint kompliziert zu sein, da Energie- und Elektronentransferprozess kompetitiv verlaufen können, was wiederum zu strahlungsloser Deaktivierung führen kann. Zusammenfassend kann man sagen, dass das Flavin in den Cryptochrommodellsystemen ein ähnliches Verhalten, wie im natürlichen Cryptochrom aufweist.

Die spektroskopischen, elektrochemischen und spektroelektrochemischen Untersuchungen der Diade **S-29** zeigten wie im vorherigen Fall keine elektronische Kopplung im Grundzustand. Diese Verbindung weist unerwartet keine Fluoreszenz und daher keinen Energietransferprozess von Deazaflavin zu Flavin auf, wie es im Cryptochrom üblich ist. Dies geschieht wahrscheinlich aufgrund einer Geometriereorganisation des Binnaphthylgrundkörpers im angeregten Zustand.

Die Verbindungen **33** und **34** unterscheiden sich von den anderen Flavindiaden in der Verknüpfung der Phenothiazin- und Flavingrundkörper. Die aromatischen π -Systeme sind in diesem Fall direkt verbunden und durchkonjugiert. Die Absorptionsspektren zeigen, dass im Grundzustand eine elektronische Kopplung vorhanden ist. Diese Kopplung ist aber nicht groß genug, um sie mit elektrochemischen Methoden nachzuweisen. Daraus kann man schließen, dass die Veränderung im Absorptionsspektrum aufgrund eines Charge-Transfer-Zustandes erfolgt. Die Diade **34** weist in mittel- und unpolaren Lösungsmitteln eine negative Solvatochromie aufgrund der schon erwähnten Ladungstrennung im Grundzustand auf. Aus den Ergebnissen der Absorptionsspektroskopie konnte die Abhängigkeit des Absorptionsmaximums vom Lösungsmittel bestimmt werden. Durch die numerische Auswertung dieser Abhängigkeit wurde eine Gleichung erstellt, mit der die Absorptionmaxima für verschiedene Lösungsmittel berechnet werden können. Die Fluoreszenzuntersuchungen zeigten, dass die Emission der Diaden **33** und **34** entweder durch den CT-Zustand oder andere Deaktivierungsprozesse gequenchet ist.

6.2 Phototropinmodellsysteme

Die untersuchten Thiol-Flavine zeigen keine Abweichung vom charakteristischen Flavinverhalten in der Absorptions- und Fluoreszenzspektroskopie, Cyclovoltammetrie und der Spektroelektrochemie. Die Bestrahlung der Flavine mit geschützten Thiolgruppen **47**, **48** (C57M-Mutant) unter Sauerstoffausschluss führte zu irreversiblen Photoprodukten.

ten (Alkylierung an der N(5)-Position). Bei Flavinen mit der unsubstituierten Thiolgruppe **39**, **41**, **44** (Wildtyp) konnte keine photochemische Reaktion nachgewiesen werden aufgrund der im Vergleich zum Photozyklus langsameren Detektion.

6.3 Flavindimere

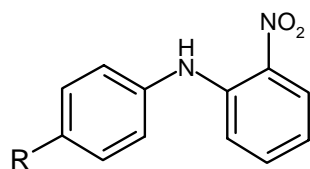
Die Flavindimere **51**, **52**, **53**, **56**, **57** und **58** konnten in einem großen Maßstab dargestellt werden. Die Synthese wurde optimiert und die Ausbeute von 10% auf 60% erhöht. Durch die Anwendung von verschiedenen analytischen Messtechniken wurde die Struktur der Flavindimere gelöst. Die Ethen-Flavindimere zeigen im Vergleich zu Riboflavin in Absorptions-, Fluoreszenzspektroskopie, Circular dichroismus, Elektrochemie und Spektroelektrochemie ein anderes Verhalten. Dagegen weisen Ethan-Flavindimere das charakteristische Verhalten der Flavine auf. Der Extinktionskoeffizient von Ethan-Flavindimeren beträgt das Doppelte von Riboflavin, was auf die doppelte Anzahl der Flavineinheiten im Molekül zurückzuführen ist. Die elektrochemischen Untersuchungen der Ethan- und Ethen-Flavindimere zeigen, dass sich die Isoalloxazineinheiten nicht beeinflussen, keine Wechselwirkung stattfindet und die Reduktion über einen Zweielektronenprozess verläuft. Das Halbstufenpotential der ersten Reduktion der Ethen-Flavindimere ist im Vergleich zu Riboflavintetraacetat und Ethan-Flavindimeren positiver verschoben. Während der ersten Reduktion entsteht im Absorptionsspektrum eine neue sehr starke Bande bei 730nm ($\epsilon \approx 125000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Der Zweielektronentransfer wurde mittels Computersimulation und mittels UV/Vis-Titration mit 1,3-Propanedithiol bestätigt. Die angewendete ESR-Messung hat den Charakter des Dianion untersucht. Es zeigte sich aber, dass die Reduktion unter den ESR-Messbedingungen nicht kontrollierbar ist. Demnach kann eine Synproportionierung stattfinden, so dass das schwache Signal vom Radikalanion stammt. Da das Radikalanion im gesamten konjugierten System delokalisiert ist, gelang es nicht ein ENDOR-Spektrum aufzunehmen.

Das komplexierungstaugliche Motiv der Flavine wurde für die Bindungsstudien der Wasserstoffbrückenbildung und der Metallkomplexierung bei Flavindimeren ausgenutzt. Die Wasserstoffbrückenbildung wurde mittels NMR-Technik beobachtet und die Assoziationskonstanten der Komplexe mit verschiedenen Rezeptoren bestimmt. Die besten Ergebnisse der Aggregation von **56** durch die Wasserstoffbrücken wurden mit dem Rezeptor **S-61** erzielt, unter der Ausbildung von einem Oligomer. Als Modell für

die Berechnung der Assoziationskonstante wurde aufgrund des Kooperativitätseffektes auf den 1:1-Komplex angenommen. Die Durchführung einer CV-Titration von **56** mit **S-61** zeigt im Cyclovoltammogramm eine Veränderung der Reduktionsprozesse, wie es *Rotello* beschrieben hat. Die Komplexierung der Flavindimere mit Metallionen wurde mittels Absorptionsspektroskopie nachgewiesen. Es konnten die Komplexierungskonstanten und die Stöchiometrie für verschiedene Metallione bestimmt werden.

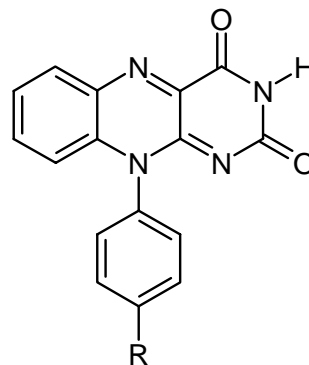
Ein ganz besonderes Verhalten ergibt sich bei Ethen-Flavindimeren (**56**) durch Selbstaggregation in mittel- und unpolaren Lösungsmitteln. Mittels Absorptionsspektroskopie wurden die Veränderungen der Absorption beobachtet und aufgrund der Ergebnisse dieser Messungen als J-Aggregation ausgewertet. Wie erwartet, zeigen solche Aggregate eine Temperatur- (Absorptions-, CD- und Fluoreszenzspektroskopie) und Lösungsmittelabhängigkeit. Leider gelang es nicht Kristalle in einer ausreichenden Größe zu züchten, um eine Röntgenstrukturanalyse durchzuführen. Die durchgeführte Rasterkraftmikroskopiemessung (Atomic Force Microscopy, AFM) hat die Aussage über die 2D-Struktur der Aggregate geleistet. Es zeigte sich, dass in mittelpolaren Lösungsmitteln wie Chloroform eher die Wasserstoffbrückenbildung überwiegt. Durch Zugabe von einem unpolaren Lösungsmittel wird die Aggregation mittel π - π -Stacking hervorgerufen. Die Struktur in Chloroform ist ungeordnet in Form breiter Stäbchen mit einem Durchmesser von ca. 8nm. Dagegen bildet sich nach der Zugabe von n-Hexan (Chloroform/n-Hexan - 9:1) eine geordnete Struktur mit Fischgrätenmuster und einer Linienbreite von 4nm, die von der Struktur des Graphitträgers beeinflusst wird. Beim Lösungsmittelverhältnis Chloroform/n-Hexan - 5:1 werden Nanokristalle gebildet. Die Struktur der Aggregate deutet auf die J-Aggregation hin. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass die beobachteten Veränderungen in der Absorption von **56** nicht aufgrund der J-Aggregation entstanden sind, sondern aufgrund der Nanokristallisation.

7 Formeltafel



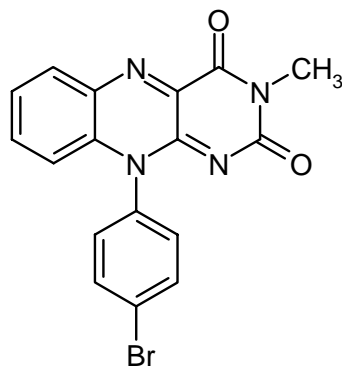
R= H - 1

R= Br - 2

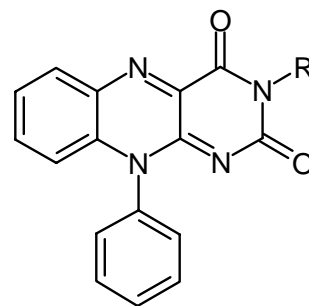
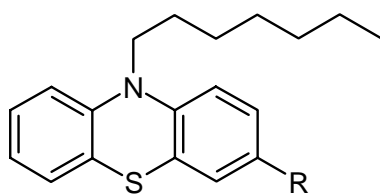


R= H - 3

R= Br - 4

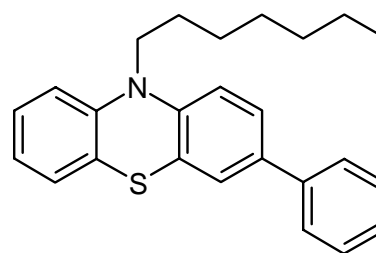


5

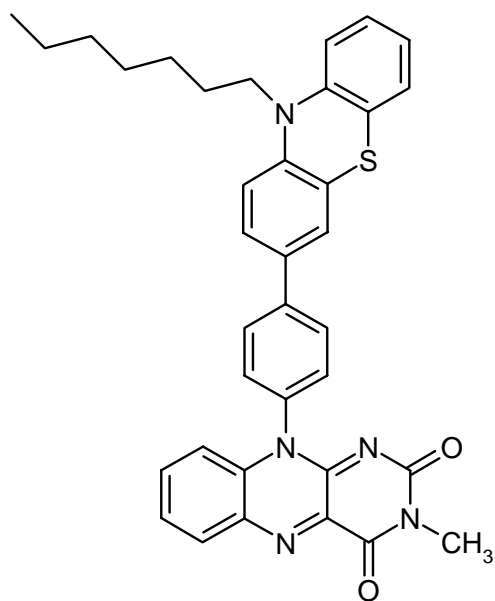
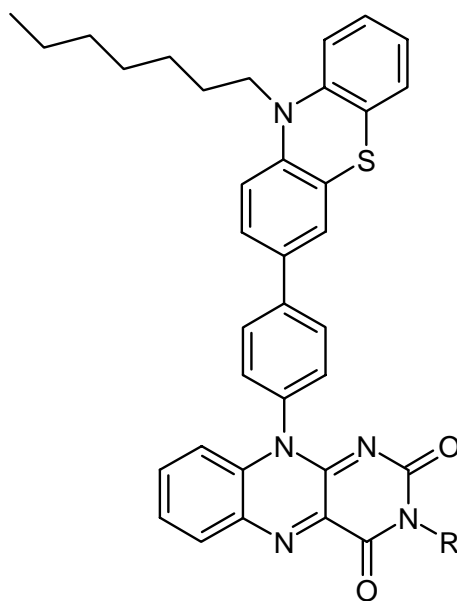
R= CH₂COOEt - 6R= CH₂COOH - 7

R= H - 8

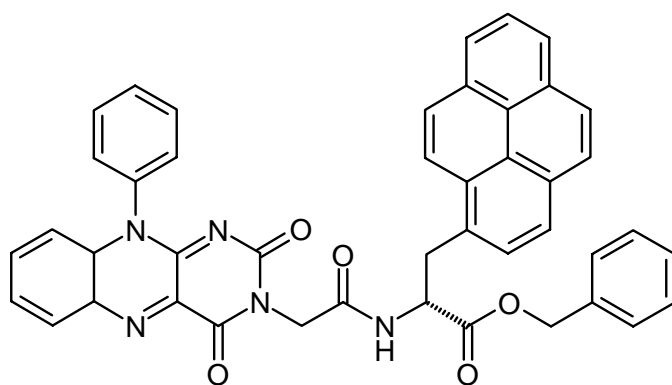
R= Br - 9

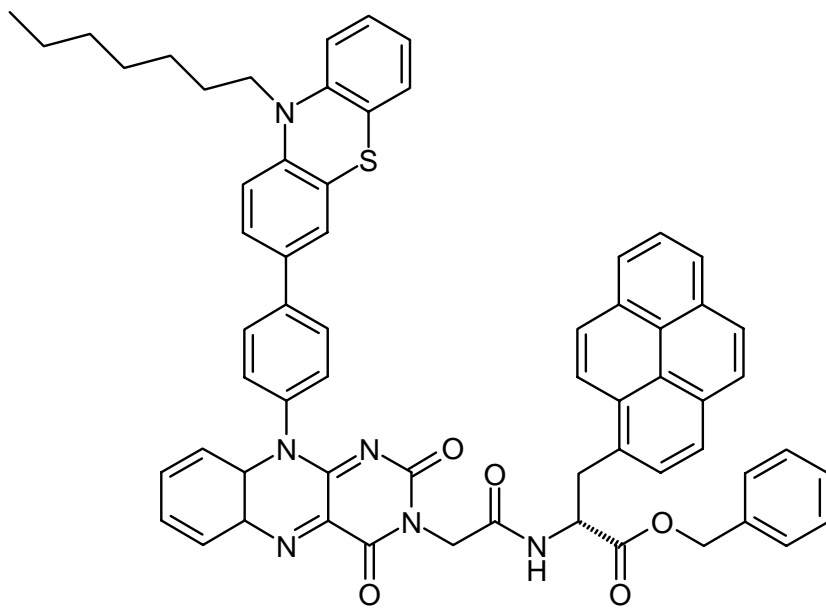
R= Sn(C₄H₉)₃ - 10

11

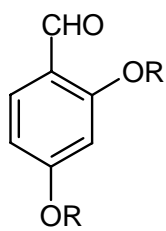
**12**

R= H - **14**
R= CH₂COOEt - **15**
R= CH₂COOH - **16**

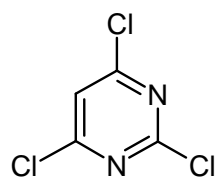
**13**



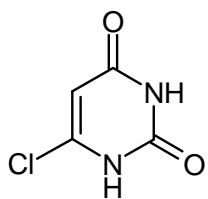
17



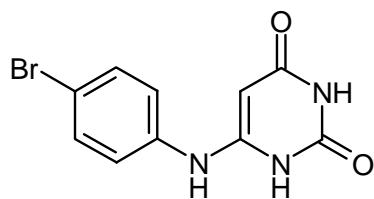
R= H - 18

R= CH₃ - **19**

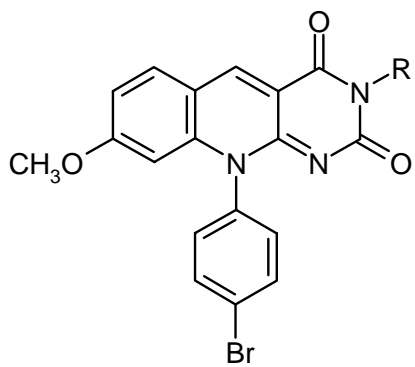
20



21

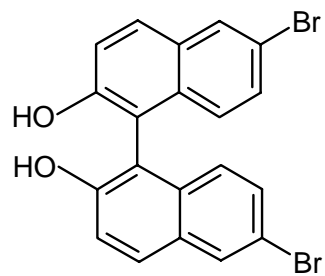


22

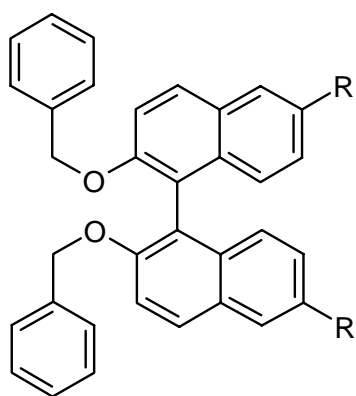


R= H - 23

R= CH₃ - **24**

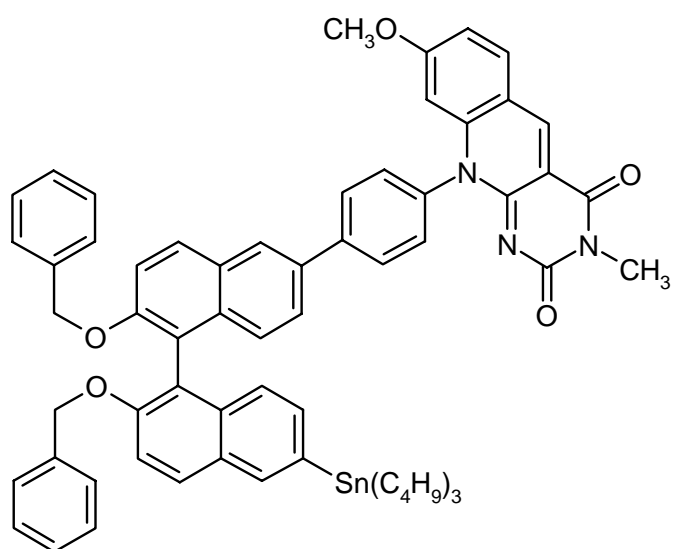


R,S-25

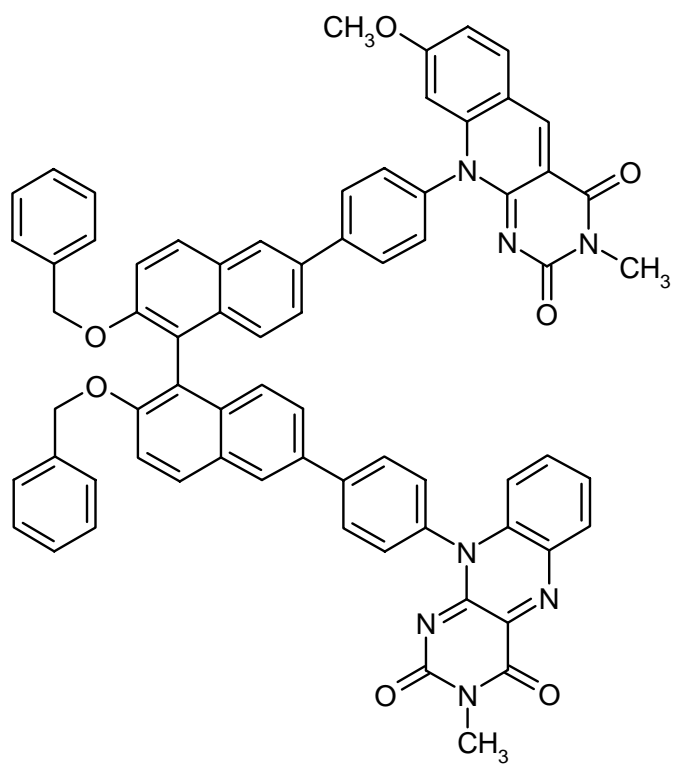


R= Br - **S-26**

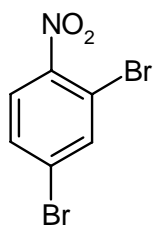
R= Sn(C₄H₉)₃ - **S-27**



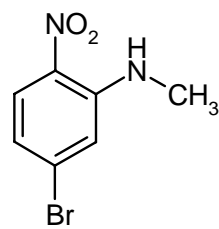
S-28



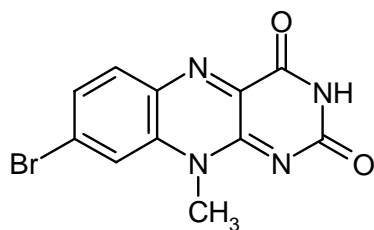
S-29



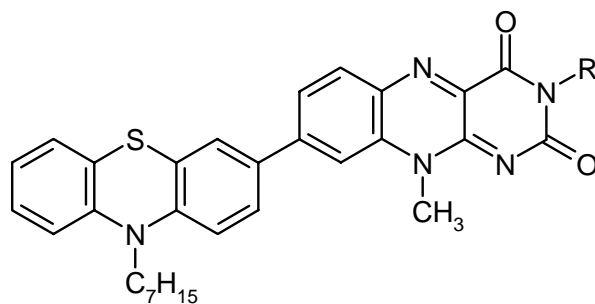
30



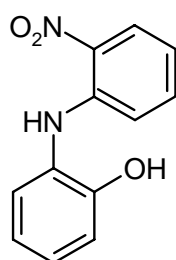
31



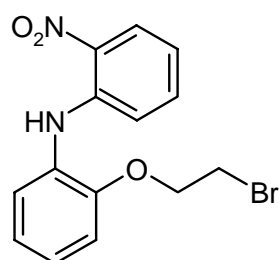
32



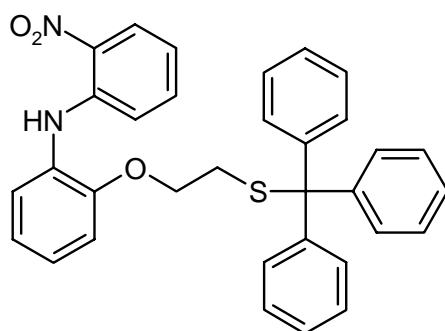
R= H - 33

R= CH₃ - 34

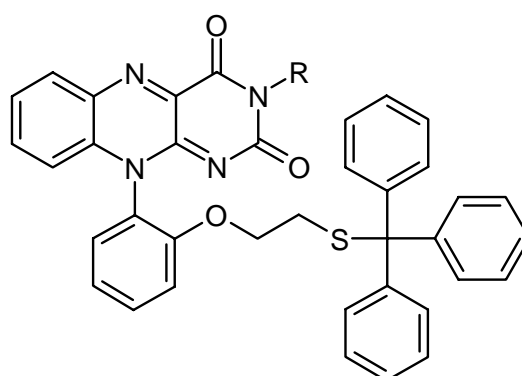
35



36

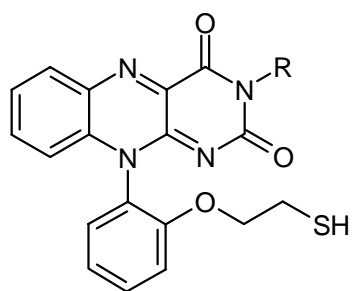


37

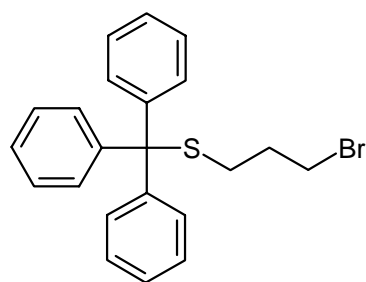


R= H - 38

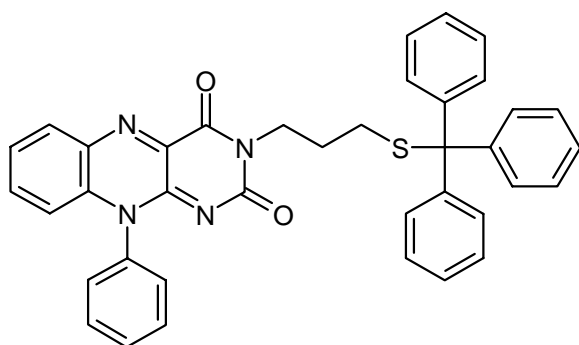
R= CH₃ - 40



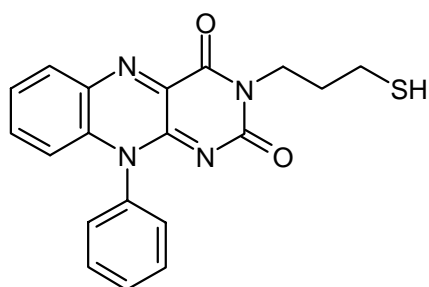
R= H - **39**
R= CH₃ - **41**



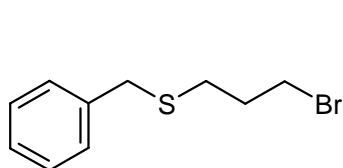
42



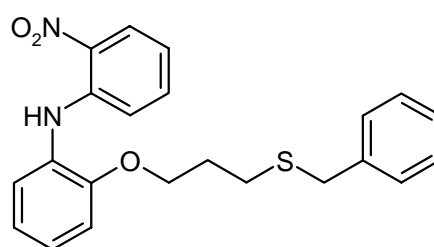
43



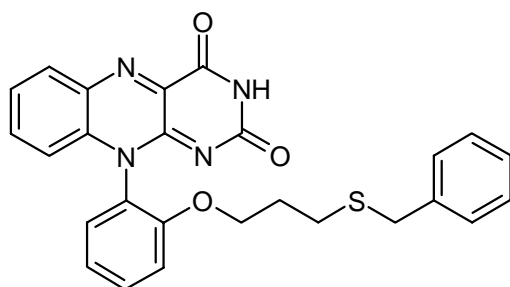
44



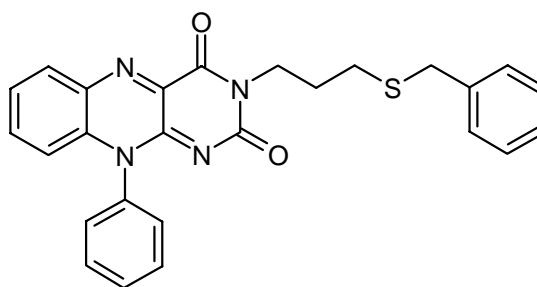
45



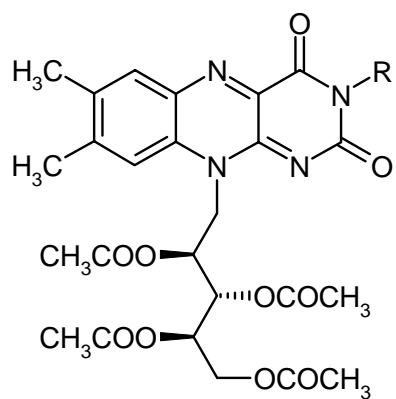
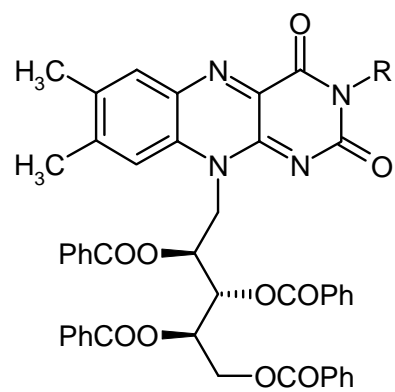
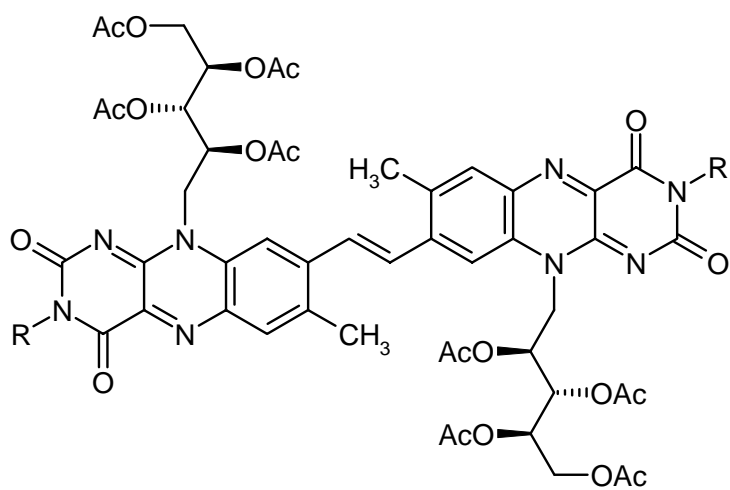
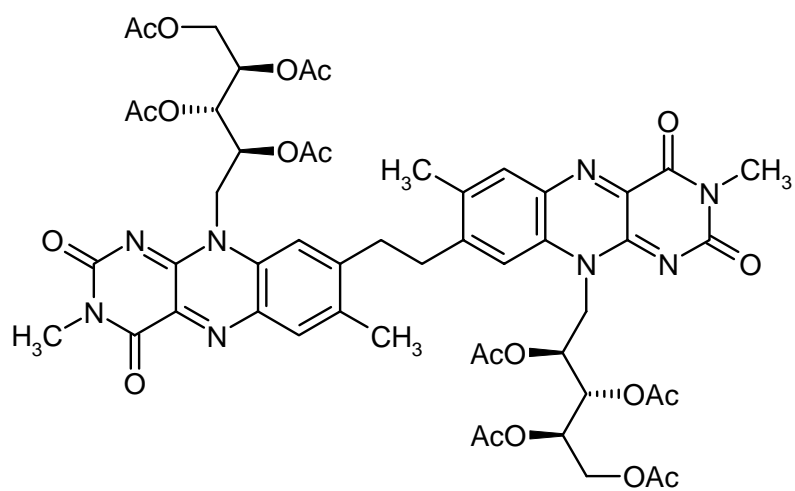
46

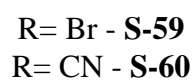
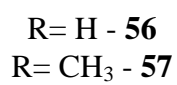


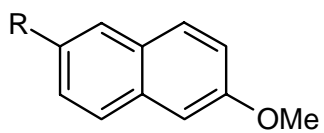
47



48

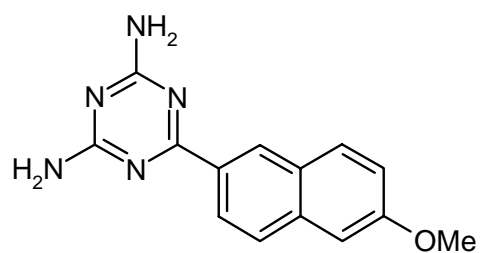
R= H - **49**R= CH₃ - **50**R= H - **54**R= CH₃ - **55**R= H - **51**R= CH₃ - **52****53**





R= Br - **62**

R= CN - **63**



64

8 Publikationen und Präsentationen

Teil dieser Arbeit wurde bereits publiziert oder wird zur Veröffentlichung eingereicht. Ergebnisse wurden im Rahmen verschiedener Vorträge und Posterpräsentationen vorgestellt.

Publikationen:

- Towards modelling light processes of blue-light photoreceptors. Pyrene-isoalloxazine(flavin)-phenothiazine triad: electrochemical, photophysical, investigations and quantum chemical calculations, Z. Shen, R. Procházka, J. Daub, N. Fritz, N. Acar, S. Schneider, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2003**, 5, 3416.
- Mimicking the dye processes of sensory photoreceptors, J. Daub, C. Trieflinger, O. Kushnir, R. Procházka, *Mol. Cryst. Liq. Cryst. Sci. Technol.*, zur Publikation eingereicht.
- Flavin dimers (R. Procházka, J. Daub, in Vorbereitung)

Posterpräsentationen:

- Flavinderivates based on optical active 1,1'-Binaphtyle
1. Summer meeting of the Graduate Collage „Sensory Photoreceptors“ (GRK 640/1), Nové Hradý, Tschechien, **2001**.
- Flavinderivates based on optical active 1,1'-Binaphtyle
GDCh Jahrestagung, Würzburg, **2001**.
- Phototropins
2. Summer meeting of the Graduate Collage „Sensory Photoreceptors“ (GRK 640/1), Nové Hradý, Tschechien, **2002**.
- Electrochemistry of flavin derivatives
53rd Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, Düsseldorf, **2002**
- Cryptochrome
Evaluation of the Graduate Collage „Sensory Photoreceptors“ (GRK 640/1), Regensburg, **2002**.

- Flavin Dimers
- 3. Summer meeting of the Graduate Collage „Sensory Photoreceptors“ (GRK 640/1), Frauenschiemsee, **2003**.
- Flavin Dimers
- 8th Conference on Methods and Applications of Fluorescence, Prag, Tschechien, **2003**
- Flavin Dimers
- 4. Summer meeting of the Graduate Collage „Sensory Photoreceptors“ (GRK 640/1), Regen, **2004**.
- Photochromism of flavin-thiol compounds (mimicking of natural phototropin)
- ISOP '04, Arcachon, Frankreich, **2004**.

Vorträge:

- Flavinderivates based on optical active 1,1'-Binaphtyle
- 2. Summer meeting of the Graduate Collage „Sensory Photoreceptors“ (GRK 640/1), Nové Hrad, Tschechien, **2002**.
- Cryptochrome
- 4. Regensburger Weihnachtskolloquium, Institut für Organische Chemie, Regensburg, **2002**.
- Cryptochrome
- Evaluation of the Graduate Collage „Sensory Photoreceptors“ (GRK 640/1), Regensburg, **2003**.
- Flavin Dimers
- 3. Summer meeting of the Graduate Collage „Sensory Photoreceptors“ (GRK 640/1), Frauenschiemsee, **2003**.
- Flavin Dimers
- 4. Summer meeting of the Graduate Collage „Sensory Photoreceptors“ (GRK 640/1), Regen, **2004**.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all jenen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

Herrn Dr. T. Burgemeister, Herrn F. Kastner, Frau N. Pustet, Frau A. Schramm und Frau G. Stühler für die Aufnahme der NMR-Spektren; Herrn Dr. T. Burgemeister insbesondere für wertvolle Diskussionen und Tipps bezüglich der Interpretation der NMR-Spektren;

Frau B. Gruber, Herrn H. Schüller und Herrn G. Wandering für die Durchführung der Elementaranalysen;

Herrn Dr. K. Mayer, Herrn J. Kiermeier und Herrn W. Söllner für die Aufnahme der Massenspektren und HPLC-MS-Kopplungen;

Herrn Dr. M. Zabel und S. Stempfhuber für die Versuche die Röntgenstrukturspektren anzufertigen;

Herrn Dr. R. Vasold und E. Lautenschlager für die Durchführung der HPLC-Messungen und den Vorrang für die Vermessung meiner Substanzen;

Herrn Prof. O. Wolfbeis für die Möglichkeit zur Verwendung des CD-Spektrometers;

Frau D. Fischer für die Unterstützung bei der Auswertung von 2D-NMR-Spektren und für das Korrekturlesen;

Bei N. Acar, Dr. N. Fritz und Prof. S. Schneider (Institut für physikalische Chemie, Universität Erlangen) bedanke ich mich für die Aufnahme und Charakterisierung der zeitaufgelösten Fluoreszenzspektren der Cryptochrom-Modellverbindungen;

Bei J. Shirdel und Prof. A. Penzkofer (Institut für physikalische Chemie, Universität Regensburg) bedanke ich mich für die Aufnahme und Charakterisierung der zeitaufgelösten Femtosekundenfluoreszenzspektren der Cryptochrom-Modellverbindungen;

Bei Dr. T. Kottke (Institut für physikalische Chemie, Universität Regensburg) bedanke ich mich für die Durchführung der Bestrahlung der Thiol-Flavine und für zahlreiche Diskussionen nicht nur chemischer Art;

Bei T. Stanoeva und Prof. G. Gescheidt (Institut für physikalische Chemie, Technische Universität Graz) bedanke ich mich für die Aufnahme der ESR-Spektren;

Bei V. Stepanenko, Dr. M. Lysetska und Prof. F. Würthner (Institut für organische Chemie, Universität Würzburg) bedanke ich mich für die Aufnahme und Interpretation der AFM-Bilder;

Bei Dr. H. Görner (MPI für Bioanorganische Chemie, Mülheim a.d. Ruhr) für die Aufnahme der zeitaufgelösten Fluoreszenzspektren und die Untersuchung der cis-trans-Isomerisierung der Flavindimere;

Danksagung

Bei C. Vijayakumar und Dr. A. Ayajaghosh (Photochemical Research Unit, Regional Research Laboratory, CSIR, Trivandrum, Indien) für die Aufnahme der temperaturabhängigen UV-, CD- und Fluoreszenzspektren der Flavindimere und E. Arunkumar für die Auflockerung des Laboralltags während seines Aufenthalts in Regensburg;

Für die finanzielle Unterstützung bedanke ich mich bei der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Vor allem möchte ich mich bei allen jetzigen und ehemaligen Mitarbeitern des Arbeitskreises bedanken, die stets für eine angenehme und fördernde Arbeitsatmosphäre sorgten und bei allen fachlichen und außerfachlichen Belangen hilfreich zur Seite standen.

Christian Trieflinger danke ich für eine tolle gemeinsame Zeit im Labor, für seine fundierte Antworten auf Fragen aller Art, für die Demonstration der bayrischen Gelassenheit in allen Lebenslagen, Begeisterung für Fußball und Parties, viele gemeinsame Lachanfälle, und letztendlich für das unendliche Korrekturlesen;

Oleg Kushnir danke ich für seine Hilfsbereitschaft, u. a. bei der Beseitigung zahlreicher Computerprobleme, für etliche tiefsinnige Diskussionen über die Ukraine und für seine Fähigkeit überall nach fünf Minuten einzuschlafen;

Theo Kaiser, unserem Sprössling für seine nette Art, das Mitmachen bei diversen Freizeitaktivitäten (Fahrradtour nach Ingolstadt), die Mitfahrten auf seinem Gepäckträger und zahlreiche Besuche in Regensburger Biergärten;

Jörg Strauß, dem Westtschechen aus dem Walde für die lockere Einführung ins AK-Leben, lustige Gegebenheiten im Labor, für seine nette Art und die wilde Tanzkunst;

Gilbert Nöll, der laufenden Enzyklopädie der Elektrochemie, für die unvergesslichen Seminarbeiträge, für 'ne gemütliche Feier auf seinem Anwesen und für die Geschichten aus der Unterwelt, über die Bienen-, Kaninchen- und Schweinezucht und die zahlreichen ärztlichen Behandlungen;

Manuelle Avola, dem ungewöhnlich ruhigen Italiener, danke ich für die Erledigung von Aufgaben aller Art;

Michaela Lutz danke ich für ihre Hilfsbereitschaft und nette Art, zahlreiche Diskussionen über Kochkunst und die Herstellung einiger Präparate im Rahmen dieser Arbeit;

Frau Christine Hübner und Ulrike Weck für ihre angenehm lockere Art und organisatorische Erledigungen;

Den ehemaligen Arbeitskollegen Michael Büschel, Hans-Christoph Gallmeier, Franz Redl und Gerhard Beer danke ich für das angenehme Arbeitsklima.

Danksagung

Ebenso möchte ich mich bei einigen langjährigen Studienfreunden und bei der Konstanzer Clique bedanken: Maruška, Šárka, Markéta, Ota, Pavel, Čičin, Květko und Aleš, Veronika und Claus, Pavel und Lucie, Anne-Sophie, Céline und Hong.

Ganz besonders möchte ich mich bei meiner Freundin Andrea für ihre Unterstützung, ihre Geduld und ihr Vertrauen bedanken. Bei meinen Schwestern Helena und Světlana und natürlich bei meinen Eltern, die mir stets den nötigen Rückhalt geboten haben.